

PCT/JP 03/07332

日本国特許
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D PCT/PTO 10 DEC 2004

10.06.03

10/517543

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2002年 6月10日

出願番号
Application Number: 特願2002-168875
[ST. 10/C]: [JP2002-168875]

REC'D 25 JUL 2003

WIPO PCT

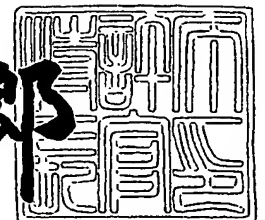
出願人
Applicant(s): 株式会社植物ゲノムセンター
独立行政法人農業技術研究機構

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 7月 9日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



【書類名】 特許願

【整理番号】 P2-A0202

【提出日】 平成14年 6月10日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-2 株式会社植物ゲノムセンター内

【氏名】 美濃部 侑三

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-2 株式会社植物ゲノムセンター内

【氏名】 門奈 理佐

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-2 株式会社植物ゲノムセンター内

【氏名】 鈴木 淳子

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-2 株式会社植物ゲノムセンター内

【氏名】 太田 理恵子

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台3-1-1 独立行政法人農業技術研究機構 作物研究所内

【氏名】 根本 博

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台3-1-1 独立行政法人農業技術研究機構 作物研究所内

【氏名】 出田 収

【特許出願人】

【識別番号】 500301371

【氏名又は名称】 株式会社植物ゲノムセンター

【特許出願人】

【識別番号】 501203344

【氏名又は名称】 独立行政法人 農業技術研究機構

【代理人】

【識別番号】 100102978

【弁理士】

【氏名又は名称】 清水 初志

【選任した代理人】

【識別番号】 100108774

【弁理士】

【氏名又は名称】 橋本 一憲

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 041092

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 イネの品種鑑別法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の工程（a）および（b）を含む、イネ品種を鑑別する方法。

（a）イネゲノムにおける以下の（1）～（28）のいずれかに記載の塩基部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における部位の塩基種を判定する工程、

- （1）配列番号：1 に記載の塩基配列の 5 9 3 位
- （2）配列番号：2 に記載の塩基配列の 3 0 4 位
- （3）配列番号：3 に記載の塩基配列の 4 5 0 位
- （4）配列番号：4 に記載の塩基配列の 3 7 7 位
- （5）配列番号：5 に記載の塩基配列の 1 6 3 位
- （6）配列番号：6 に記載の塩基配列の 6 2 4 位
- （7）配列番号：7 に記載の塩基配列の 5 3 4 位
- （8）配列番号：8 に記載の塩基配列の 3 5 8 位
- （9）配列番号：9 に記載の塩基配列の 4 7 5 位
- （10）配列番号：10 に記載の塩基配列の 3 2 3 位
- （11）配列番号：11 に記載の塩基配列の 6 1 2 位
- （12）配列番号：12 に記載の塩基配列の 7 6 5 位
- （13）配列番号：13 に記載の塩基配列の 5 7 1 位
- （14）配列番号：14 に記載の塩基配列の 6 6 0 位
- （15）配列番号：15 に記載の塩基配列の 2 2 3 位
- （16）配列番号：16 に記載の塩基配列の 2 4 7 位
- （17）配列番号：17 に記載の塩基配列の 1 6 3 位
- （18）配列番号：18 に記載の塩基配列の 4 2 1 位
- （19）配列番号：19 に記載の塩基配列の 1 7 8 位
- （20）配列番号：20 に記載の塩基配列の 1 4 1 位
- （21）配列番号：21 に記載の塩基配列の 4 8 0 位

- (22) 配列番号：22に記載の塩基配列の481位
 - (23) 配列番号：23に記載の塩基配列の131位
 - (24) 配列番号：24に記載の塩基配列の510位
 - (25) 配列番号：25に記載の塩基配列の248位
 - (26) 配列番号：26に記載の塩基配列の92位
 - (27) 配列番号：27に記載の塩基配列の743位
 - (28) 配列番号：28に記載の塩基配列の552位
- (b) 上記工程 (a) により判定された塩基種と品種を関連付ける工程

【請求項2】 イネゲノムにおける以下の(1)～(28)のいずれかに記載の塩基変異を特徴とする多型マーカーを用いて塩基種の判定を行う、請求項1に記載の方法。

- (1) 配列番号：1に記載の塩基配列の593位の塩基がT
- (2) 配列番号：2に記載の塩基配列の304位の塩基がT
- (3) 配列番号：3に記載の塩基配列の450位の塩基がA
- (4) 配列番号：4に記載の塩基配列の377位の塩基がC
- (5) 配列番号：5に記載の塩基配列の163位の塩基がC
- (6) 配列番号：6に記載の塩基配列の624位の塩基がC
- (7) 配列番号：7に記載の塩基配列の534位の塩基がC
- (8) 配列番号：8に記載の塩基配列の358位の塩基がG
- (9) 配列番号：9に記載の塩基配列の475位の塩基がG
- (10) 配列番号：10に記載の塩基配列の323位の塩基がA
- (11) 配列番号：11に記載の塩基配列の612位の塩基がA
- (12) 配列番号：12に記載の塩基配列の765位の塩基がT
- (13) 配列番号：13に記載の塩基配列の571位の塩基がT
- (14) 配列番号：14に記載の塩基配列の660位の塩基がG
- (15) 配列番号：15に記載の塩基配列の223位の塩基がA
- (16) 配列番号：16に記載の塩基配列の247位の塩基がA
- (17) 配列番号：17に記載の塩基配列の163位の塩基がA
- (18) 配列番号：18に記載の塩基配列の421位の塩基がC

- (19) 配列番号: 19に記載の塩基配列の178位の塩基がG
- (20) 配列番号: 20に記載の塩基配列の141位の塩基がG
- (21) 配列番号: 21に記載の塩基配列の480位の塩基がC
- (22) 配列番号: 22に記載の塩基配列の481位の塩基がC
- (23) 配列番号: 23に記載の塩基配列の131位の塩基がC
- (24) 配列番号: 24に記載の塩基配列の510位の塩基がA
- (25) 配列番号: 25に記載の塩基配列の248位の塩基がT
- (26) 配列番号: 26に記載の塩基配列の92位の塩基がC
- (27) 配列番号: 27に記載の塩基配列の743位の塩基がG
- (28) 配列番号: 28に記載の塩基配列の552位の塩基がT

【請求項3】 以下の(a)～(c)の工程を含む、請求項1または2に記載の方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程
- (c) 増幅したDNAの塩基配列を決定する工程

【請求項4】 以下の(a)～(d)の工程を含む、請求項1または2に記載の方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 調製したDNAを制限酵素により切断する工程
- (c) DNA断片をその大きさに応じて分離する工程
- (d) 検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する工程

【請求項5】 以下の(a)～(e)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

- (c) 増幅したDNAを制限酵素により切断する工程
- (d) DNA断片をその大きさに応じて分離する工程
- (e) 検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する工程

【請求項6】 以下の(a)～(e)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程
- (c) 増幅したDNAを一本鎖に解離させる工程
- (d) 解離させた一本鎖DNAを非変性ゲル上で分離する工程
- (e) 分離した一本鎖DNAのゲル上での移動度を対照と比較する工程

【請求項7】 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む近傍の塩基配列と相補的なオリゴヌクレオチドに、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光の2つを標識したプローブを2種類合成する工程
- (c) 工程(a)で調製したDNAに、工程(b)で合成したプローブをハイブリダイズさせる工程
- (d) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程
- (e) レポーター蛍光の発光を検出する工程
- (f) 工程(e)で検出したレポーター蛍光の発光を対照と比較する工程

【請求項8】 以下の(a)～(h)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項 1 に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む 3' 側塩基配列と相補的な配列、および全く無関係な配列を合わせたプローブを合成する工程

(c) 請求項 1 に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から 5' 末端側が相補的なプローブを合成する工程

(d) 工程 (c) で合成したプローブと工程 (a) で調製した DNA とハイブリダイズさせる工程

(e) 工程 (d) でハイブリダイズした DNA を一本鎖 DNA 切断酵素で切断し、工程 (b) で合成したプローブの一部を遊離させる工程

(f) 工程 (e) で遊離したプローブと、検出用プローブとをハイブリダイズさせる工程

(g) 工程 (f) でハイブリダイズした DNA を酵素的に切断し、その際に発生する蛍光の強度を測定する工程

(h) 工程 (g) で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

【請求項 9】 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、請求項 1 または 2 に記載の判定方法。

(a) 被検イネから DNA を調製する工程

(b) 請求項 1 に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工程

(c) 増幅した DNA を一本鎖に解離させる工程

(d) 解離させた一本鎖 DNA のうち、片鎖のみを分離する工程

(e) 請求項 1 に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の近傍より 1 塩基ずつ伸長反応を行い、その際に生成されるピロリン酸を酵素的に発光させ、発光の強度を測定する工程

(f) 工程 (e) で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

【請求項 10】 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、請求項 1 または 2 に

記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程
- (c) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程
- (d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程(b)で増幅したDNAを鋳型とし、工程(c)で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程
- (e) 蛍光の偏光度を測定する工程
- (f) 工程(e)で測定した蛍光の偏光度を対照と比較する工程

【請求項11】 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程
- (b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程
- (c) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程
- (d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程(b)で増幅したDNAを鋳型とし、工程(c)で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程
- (e) シーケンサーを利用して、工程(d)で反応に使われた塩基種を判定する工程
- (f) 工程(e)で判定された塩基種を対照と比較する工程

【請求項12】 以下の(a)～(d)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

- (a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 工程(b)で増幅したDNAを質量分析器にかけ、分子量を測定する工程

(d) 工程(c)で測定した分子量を対照と比較する工程

【請求項13】 以下の(a)～(f)の工程を含む、請求項1または2に記載の判定方法。

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) ヌクレオチドプローブが固定された基板を提供する工程

(d) 工程(b)のDNAと工程(c)の基板を接触させる工程

(e) 該DNAと該基板に固定されたヌクレオチドプローブとのハイブリダイズの強度を検出する工程

(f) 工程(e)で検出された強度を対照と比較する工程

【請求項14】 以下の工程(a)および(b)をさらに含む、請求項1～13のいずれかに記載の方法。

(a) アルカリ性の水性溶媒中でイネの種子を粉砕する工程、および

(b) 上記工程(a)で粉砕した種子からイネゲノムDNAを抽出する工程

【請求項15】 種子が精米されている請求項14に記載の方法。

【請求項16】 イネの品種を鑑別するためのプライマーであって、

(a) イネゲノムにおける請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域を増幅するためのオリゴヌクレオチド、または

(b) イネゲノムにおける請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチド。

【請求項17】 請求項1に記載の(1)～(28)のいずれかに記載の部

位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域とハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有する、イネの品種を鑑別するためのオリゴヌクレオチド。

【請求項18】 請求項16または17に記載のオリゴヌクレオチドを含む、イネ品種鑑別用キット。

【請求項19】 さらに、アルカリ性の水性溶媒を含む、請求項18に記載のイネ品種鑑別用キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、イネの品種鑑別方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

イネあるいは米の品種鑑別には草丈、分けつ数、出穂期などの栽培特性、粒形、粒重、白度などの玄米・精米特性、および食味等の炊飯特性が従来利用されてきた。また近年では、これらに加えて、RFLP（制限酵素断片長多型）やCAPS（cleaved amplified polymorphic sequence）などの分子遺伝学的解析による分別も可能となっている。しかし、栽培特性による鑑別には熟練した育種家の目が必要であり、誰にでも鑑別できるというものではない。また玄米・精米特性では統計的な解析が不可欠であり、炊飯特性ではある程度の量の米が必要であり、一粒一粒の米を鑑別することは不可能であった。分子遺伝学的解析は原理上この問題を解決したが、実際には、遠縁なものの識別には有効であるものの近縁品種間の分子マーカーの確立が難しいため、識別は困難である。

【0003】

一塩基多型（SNPs）とは、定義上はDNA塩基配列上に存在する一塩基の差異であるが、実際にはSSR（simple sequence repeat）や挿入・欠失変異も包含して表すことが多く、RFLP、CAPS等の分子マーカーで検出できる遺伝的差異や、形質等に反映される遺伝的差異は全てSNPsに由来すると言っても過言ではない。SNPs研究とSNPs判定系はこの数年で著しく進歩し、現在では電気泳動を全く必要とせ

ず、PCRから判定まで96ウェルプレート上で行うことのできる判定系も開発されており、従来の分子マーカーに比べて格段に効率的に遺伝子型の判定が可能になっている。

【0004】

一方、食品流通過程における品質表示の信頼性が問題となっている昨今、米についてもたとえばコシヒカリとして販売されている米の流通量が、全国のコシヒカリ作出量を上回るなど、米の流通過程で虚偽の表示が行われている可能性が否定できず、消費者あるいは小売業者の立場からも精米の正確な品種鑑別および混合割合の検定が望まれていた。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、その目的は、イネ品種を迅速かつ簡便に鑑別可能な新しい方法を提供することにある。より詳細には、多型マーカーを利用した、効率的なイネの品種鑑別方法の提供を目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記の課題を解決するために鋭意研究を行った。まずイネゲノムシーケンスを利用し、イネゲノム塩基配列情報が公開されている染色体領域については、遺伝子が予測されていない領域を中心に、それ以外の領域についてはRFLPマーカープローブのシーケンス等を利用して、ゲノムDNAから800bp～1kbpを増幅するプライマーを設計した。設計したプライマーを用いてまず日本晴・コシヒカリ・カサラス・廣陸矮4号（以下G4）、キタアケ、および野生イネ（*Oryza rufipogon*, W1943）の簡易抽出DNAを鋳型としてPCR増幅を行い、シーケンス反応の鋳型とした。この鋳型に対してサイクルシーケンスを行い、シーケンス用サンプルを作成した。得られたシーケンスデータを品種ごとに比較し、一塩基置換多型を検索した。同一品種、同一プライマーに対し少なくとも2回のシーケンスを行い、確実であるもののみを多型と判定した。

【0007】

日本晴・コシヒカリ間および日本晴・キタアケ間で多型の見られた部位につい

て、日本晴・ハツシモ・むつほまれ・ゆきの精・きらら397・つがるロマン・五百万石・森のくまさん・ゆめあかり・ハナエチゼン・コシヒカリ・月の光・あきたこまち・朝の光・あいちのかおり・祭り晴・ヒノヒカリ・夢つくし・ひとめぼれ・まなむすめ・ふさおとめ・どんとこい・キヌヒカリ・ササニシキの簡易抽出ゲノムDNAを鋳型とし、同様にPCR反応とシーケンシングを行い、多型部位の塩基を品種毎に比較した。

【0008】

次いで、品種鑑別に有用なSNPsについて、SNPs検出用プライマーを設計し、AcycloPrime-FPキット(PerkinElmer)を用いて一塩基ターミネータ反応を行い、ジェノタイピング用サンプルを作成した。ジェノタイピングはARVO(Perkin Elmer)で蛍光偏光度を測定して行った。

【0009】

その結果、シーケンスでSNPsと判定した箇所について作成したマーカーは、それぞれ異なるパターンを示し、組み合わせによってさまざまに分類できることが示された。つまり、イネ24品種の鑑定が可能な多型マーカーを取得することに成功した。

【0010】

上記の如く本発明者らは、日本国内で作付面積の多い24品種におけるSNPs部位を探索し、これらの品種を簡単かつ迅速に鑑別可能な多型マーカーを作成することにより、該多型マーカーを利用した新規なイネ品種鑑別方法を完成させた。本発明の方法を利用することで、DNAレベルで近縁品種の識別・特定が可能になる。

【0011】

即ち本発明は、イネ品種を迅速かつ簡便に鑑別可能な新しい方法に関し、より具体的には、

〔1〕 以下の工程(a)および(b)を含む、イネ品種を鑑別する方法。

(a) イネゲノムにおける以下の(1)～(28)のいずれかに記載の塩基部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における部位の塩基種を判定する工程、

【0012】

- (1) 配列番号: 1 に記載の塩基配列の 5 9 3 位
- (2) 配列番号: 2 に記載の塩基配列の 3 0 4 位
- (3) 配列番号: 3 に記載の塩基配列の 4 5 0 位
- (4) 配列番号: 4 に記載の塩基配列の 3 7 7 位
- (5) 配列番号: 5 に記載の塩基配列の 1 6 3 位
- (6) 配列番号: 6 に記載の塩基配列の 6 2 4 位
- (7) 配列番号: 7 に記載の塩基配列の 5 3 4 位
- (8) 配列番号: 8 に記載の塩基配列の 3 5 8 位
- (9) 配列番号: 9 に記載の塩基配列の 4 7 5 位
- (10) 配列番号: 10 に記載の塩基配列の 3 2 3 位
- (11) 配列番号: 11 に記載の塩基配列の 6 1 2 位
- (12) 配列番号: 12 に記載の塩基配列の 7 6 5 位
- (13) 配列番号: 13 に記載の塩基配列の 5 7 1 位
- (14) 配列番号: 14 に記載の塩基配列の 6 6 0 位
- (15) 配列番号: 15 に記載の塩基配列の 2 2 3 位
- (16) 配列番号: 16 に記載の塩基配列の 2 4 7 位
- (17) 配列番号: 17 に記載の塩基配列の 1 6 3 位
- (18) 配列番号: 18 に記載の塩基配列の 4 2 1 位
- (19) 配列番号: 19 に記載の塩基配列の 1 7 8 位
- (20) 配列番号: 20 に記載の塩基配列の 1 4 1 位
- (21) 配列番号: 21 に記載の塩基配列の 4 8 0 位
- (22) 配列番号: 22 に記載の塩基配列の 4 8 1 位
- (23) 配列番号: 23 に記載の塩基配列の 1 3 1 位
- (24) 配列番号: 24 に記載の塩基配列の 5 1 0 位
- (25) 配列番号: 25 に記載の塩基配列の 2 4 8 位
- (26) 配列番号: 26 に記載の塩基配列の 9 2 位
- (27) 配列番号: 27 に記載の塩基配列の 7 4 3 位
- (28) 配列番号: 28 に記載の塩基配列の 5 5 2 位

【0013】

(b) 上記工程 (a) により判定された塩基種と品種を関連付ける工程

〔2〕 イネゲノムにおける以下の (1) ~ (28) のいずれかに記載の塩基変異を特徴とする多型マーカーを用いて塩基種の判定を行う、〔1〕に記載の方法

【0014】

- (1) 配列番号: 1 に記載の塩基配列の 5 9 3 位の塩基が T
- (2) 配列番号: 2 に記載の塩基配列の 3 0 4 位の塩基が T
- (3) 配列番号: 3 に記載の塩基配列の 4 5 0 位の塩基が A
- (4) 配列番号: 4 に記載の塩基配列の 3 7 7 位の塩基が C
- (5) 配列番号: 5 に記載の塩基配列の 1 6 3 位の塩基が C
- (6) 配列番号: 6 に記載の塩基配列の 6 2 4 位の塩基が C
- (7) 配列番号: 7 に記載の塩基配列の 5 3 4 位の塩基が C
- (8) 配列番号: 8 に記載の塩基配列の 3 5 8 位の塩基が G
- (9) 配列番号: 9 に記載の塩基配列の 4 7 5 位の塩基が G
- (10) 配列番号: 10 に記載の塩基配列の 3 2 3 位の塩基が A
- (11) 配列番号: 11 に記載の塩基配列の 6 1 2 位の塩基が A
- (12) 配列番号: 12 に記載の塩基配列の 7 6 5 位の塩基が T
- (13) 配列番号: 13 に記載の塩基配列の 5 7 1 位の塩基が T
- (14) 配列番号: 14 に記載の塩基配列の 6 6 0 位の塩基が G
- (15) 配列番号: 15 に記載の塩基配列の 2 2 3 位の塩基が A
- (16) 配列番号: 16 に記載の塩基配列の 2 4 7 位の塩基が A
- (17) 配列番号: 17 に記載の塩基配列の 1 6 3 位の塩基が A
- (18) 配列番号: 18 に記載の塩基配列の 4 2 1 位の塩基が C
- (19) 配列番号: 19 に記載の塩基配列の 1 7 8 位の塩基が G
- (20) 配列番号: 20 に記載の塩基配列の 1 4 1 位の塩基が G
- (21) 配列番号: 21 に記載の塩基配列の 4 8 0 位の塩基が C
- (22) 配列番号: 22 に記載の塩基配列の 4 8 1 位の塩基が C
- (23) 配列番号: 23 に記載の塩基配列の 1 3 1 位の塩基が C

- (24) 配列番号: 24 に記載の塩基配列の 510 位の塩基が A
- (25) 配列番号: 25 に記載の塩基配列の 248 位の塩基が T
- (26) 配列番号: 26 に記載の塩基配列の 92 位の塩基が C
- (27) 配列番号: 27 に記載の塩基配列の 743 位の塩基が G
- (28) 配列番号: 28 に記載の塩基配列の 552 位の塩基が T

【0015】

〔3〕 以下の (a) ~ (c) の工程を含む、〔1〕または〔2〕に記載の方法

- (a) 被検イネから DNA を調製する工程
- (b) 〔1〕に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工程
- (c) 増幅した DNA の塩基配列を決定する工程

〔4〕 以下の (a) ~ (d) の工程を含む、〔1〕または〔2〕に記載の方法

- (a) 被検イネから DNA を調製する工程
- (b) 調製した DNA を制限酵素により切断する工程
- (c) DNA 断片をその大きさに応じて分離する工程
- (d) 検出された DNA 断片の大きさを対照と比較する工程

〔5〕 以下の (a) ~ (e) の工程を含む、〔1〕または〔2〕に記載の判定方法、

- (a) 被検イネから DNA を調製する工程
- (b) 〔1〕に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工程

- (c) 増幅した DNA を制限酵素により切断する工程
- (d) DNA 断片をその大きさに応じて分離する工程
- (e) 検出された DNA 断片の大きさを対照と比較する工程

〔6〕 以下の (a) ~ (e) の工程を含む、〔1〕または〔2〕に記載の判定

方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) 増幅したDNAを一本鎖に解離させる工程

(d) 解離させた一本鎖DNAを非変性ゲル上で分離する工程

(e) 分離した一本鎖DNAのゲル上での移動度を対照と比較する工程

[7] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む近傍の塩基配列と相補的なオリゴヌクレオチドに、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光の2つを標識したプローブを2種類合成する工程

(c) 工程 (a) で調製したDNAに、工程 (b) で合成したプローブをハイブリダイズさせる工程

(d) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(e) レポーター蛍光の発光を検出する工程

(f) 工程 (e) で検出したレポーター蛍光の発光を対照と比較する工程

[8] 以下の (a) ~ (h) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む3'側塩基配列と相補的な配列、および全く無関係な配列を合わせたプローブを合成する工程

(c) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位

における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から 5' 末端側が相補的なプローブを合成する工程

(d) 工程 (c) で合成したプローブと工程 (a) で調製した DNA とハイブリダイズさせる工程

(e) 工程 (d) でハイブリダイズした DNA を一本鎖 DNA 切断酵素で切断し、工程 (b) で合成したプローブの一部を遊離させる工程

(f) 工程 (e) で遊離したプローブと、検出用プローブとをハイブリダイズさせる工程

(g) 工程 (f) でハイブリダイズした DNA を酵素的に切断し、その際に発生する蛍光の強度を測定する工程

(h) 工程 (g) で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

[9] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

(a) 被検イネから DNA を調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工程

(c) 増幅した DNA を一本鎖に解離させる工程

(d) 解離させた一本鎖 DNA のうち、片鎖のみを分離する工程

(e) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の近傍より 1 塩基ずつ伸長反応を行い、その際に生成されるピロリン酸を酵素的に発光させ、発光の強度を測定する工程

(f) 工程 (e) で測定した蛍光の強度を対照と比較する工程

[10] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

(a) 被検イネから DNA を調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工

程

(c) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の 1 塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程

(d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程 (b) で増幅した DNA を鋳型とし、工程 (c) で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程

(e) 蛍光の偏光度を測定する工程

(f) 工程 (e) で測定した蛍光の偏光度を対照と比較する工程

[11] 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

(a) 被検イネから DNA を調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工程

(c) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の 1 塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する工程

(d) 蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程 (b) で増幅した DNA を鋳型とし、工程 (c) で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う工程

(e) シーケンサーを利用して、工程 (d) で反応に使われた塩基種を判定する工程

(f) 工程 (e) で判定された塩基種を対照と比較する工程

[12] 以下の (a) ~ (d) の工程を含む、[1] または [2] に記載の判定方法、

(a) 被検イネから DNA を調製する工程

(b) [1] に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む DNA を増幅する工程

(c) 工程 (b) で増幅した DNA を質量分析器にかけ、分子量を測定する工程

(d) 工程 (c) で測定した分子量を対照と比較する工程

〔13〕 以下の (a) ~ (f) の工程を含む、〔1〕または〔2〕に記載の判定方法、

(a) 被検イネからDNAを調製する工程

(b) 〔1〕に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する工程

(c) ヌクレオチドプローブが固定された基板を提供する工程

(d) 工程 (b) のDNAと工程 (c) の基板を接触させる工程

(e) 該DNAと該基板に固定されたヌクレオチドプローブとのハイブリダイズの強度を検出する工程

(f) 工程 (e) で検出された強度を対照と比較する工程

〔14〕 以下の工程 (a) および (b) をさらに含む、〔1〕 ~ 〔13〕 のいずれかに記載の方法、

(a) アルカリ性の水性溶媒中でイネの種子を粉砕する工程、および

(b) 上記工程 (a) で粉砕した種子からイネゲノムDNAを抽出する工程

〔15〕 種子が精米されている〔14〕に記載の方法、

〔16〕 イネの品種を鑑別するためのプライマーであって、

(a) イネゲノムにおける〔1〕に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域を増幅するためのオリゴヌクレオチド、または

(b) イネゲノムにおける〔1〕に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチド、

〔17〕 〔1〕に記載の (1) ~ (28) のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域とハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有する、イネの品種を鑑別するためのオリゴヌクレオチド、

〔18〕 〔16〕または〔17〕に記載のオリゴヌクレオチドを含む、イネ品

種鑑別用キット、

〔19〕 さらに、アルカリ性の水性溶媒を含む、〔18〕に記載のイネ品種鑑別用キット、を提供するものである。

【0016】

【発明の実施の形態】

本発明者らは、イネ24品種のゲノム配列を解析することにより、これらのイネの品種を正確に鑑別できる多型マーカーを見出した。本発明者らによって見出された、イネゲノムにおける多型部位を含むDNA領域を配列番号：1～28に記載する。また、各多型部位の位置を図1～29および表8、9に記載する。

【0017】

本発明は、イネの品種を鑑別する方法を提供する。本発明の方法は、まず、本発明者らによって見出されたイネ24品種におけるゲノム上の多型部位について、塩基種の判定を行う。より具体的には、イネゲノムにおける以下の(1)～(28)のいずれかに記載の塩基部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における部位の塩基種を判定する(工程(A))。

【0018】

- (1) 配列番号：1に記載の塩基配列の593位
- (2) 配列番号：2に記載の塩基配列の304位
- (3) 配列番号：3に記載の塩基配列の450位
- (4) 配列番号：4に記載の塩基配列の377位
- (5) 配列番号：5に記載の塩基配列の163位
- (6) 配列番号：6に記載の塩基配列の624位
- (7) 配列番号：7に記載の塩基配列の534位
- (8) 配列番号：8に記載の塩基配列の358位
- (9) 配列番号：9に記載の塩基配列の475位
- (10) 配列番号：10に記載の塩基配列の323位
- (11) 配列番号：11に記載の塩基配列の612位
- (12) 配列番号：12に記載の塩基配列の765位
- (13) 配列番号：13に記載の塩基配列の571位

- (14) 配列番号：14に記載の塩基配列の660位
- (15) 配列番号：15に記載の塩基配列の223位
- (16) 配列番号：16に記載の塩基配列の247位
- (17) 配列番号：17に記載の塩基配列の163位
- (18) 配列番号：18に記載の塩基配列の421位
- (19) 配列番号：19に記載の塩基配列の178位
- (20) 配列番号：20に記載の塩基配列の141位
- (21) 配列番号：21に記載の塩基配列の480位
- (22) 配列番号：22に記載の塩基配列の481位
- (23) 配列番号：23に記載の塩基配列の131位
- (24) 配列番号：24に記載の塩基配列の510位
- (25) 配列番号：25に記載の塩基配列の248位
- (26) 配列番号：26に記載の塩基配列の92位
- (27) 配列番号：27に記載の塩基配列の743位
- (28) 配列番号：28に記載の塩基配列の552位

【0019】

本発明における「多型」は、一塩基の置換、欠失、挿入変異からなる一塩基多型(SNPs)に限定されず、連続する数塩基の置換、欠失、挿入変異も含まれる。本発明の「多型マーカー」とは、多型部位における塩基変異(多型変異)についての情報を言う。より具体的には、本発明の多型マーカーとは、イネの品種である「日本晴」のゲノム配列と他の品種のゲノム配列とを比較した際に見出される塩基配列変異についての情報であり、イネ品種鑑別に利用可能なものを指す。本発明において塩基種の判定に使用される多型マーカーとは、好ましくは、下記の(1')～(28')で示す多型マーカーを指す。即ち、本発明の好ましい態様においては、下記(1')～(28')で示す多型マーカーを利用することにより、イネ品種の鑑別を行う。

【0020】

(1') 配列番号：1に記載の塩基配列の593位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：1に記載の塩基配列の593位の塩基部

位が、CからTへの変異である。

(2') 配列番号: 2に記載の塩基配列の304位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 2に記載の塩基配列の304位の塩基部位が、AからTへの変異である。

(3') 配列番号: 3に記載の塩基配列の450位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 3に記載の塩基配列の450位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(4') 配列番号: 4に記載の塩基配列の377位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 4に記載の塩基配列の377位の塩基部位が、TからCへの変異である。

(5') 配列番号: 5に記載の塩基配列の163位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 5に記載の塩基配列の163位の塩基部位が、TからCへの変異である。

(6') 配列番号: 6に記載の塩基配列の624位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 6に記載の塩基配列の624～626位の塩基部位が、欠失変異である。

(7') 配列番号: 7に記載の塩基配列の534位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 7に記載の塩基配列の534位の塩基部位が、AからCへの変異である。

(8') 配列番号: 8に記載の塩基配列の358位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 8に記載の塩基配列の358位と389位の間の塩基部位への、GTの挿入変異である。

(9') 配列番号: 9に記載の塩基配列の475位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 9に記載の塩基配列の475位の塩基部位が、TからGへの変異である。

(10') 配列番号: 10に記載の塩基配列の323位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号: 10に記載の塩基配列の323位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(11') 配列番号: 11に記載の塩基配列の612位の塩基がA。より詳しく

くは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：11に記載の塩基配列の612および613位の塩基部位が、CAからAGへの変異である。

(12') 配列番号：12に記載の塩基配列の765位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：12に記載の塩基配列の765位の塩基部位が、GからTへの変異である。

(13') 配列番号：13に記載の塩基配列の571位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：13に記載の塩基配列の571位の塩基部位が、GからTへの変異である。

(14') 配列番号：14に記載の塩基配列の660位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：14に記載の塩基配列の660位の塩基部位が、AからGへの変異である。

(15') 配列番号：15に記載の塩基配列の223位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：15に記載の塩基配列の223位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(16') 配列番号：16に記載の塩基配列の247位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：16に記載の塩基配列の247位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(17') 配列番号：17に記載の塩基配列の163位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：17に記載の塩基配列の163位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(18') 配列番号：18に記載の塩基配列の421位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：18に記載の塩基配列の421位の塩基部位が、AからCへの変異である。

(19') 配列番号：19に記載の塩基配列の178位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：19に記載の塩基配列の178位の塩基部位が、欠失変異である。

(20') 配列番号：20に記載の塩基配列の141位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：20に記載の塩基配列の141位の塩基部位が、AからGへの変異である。

(21') 配列番号：21に記載の塩基配列の480位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：21に記載の塩基配列の480位の塩基部位が、TからCへの変異である。

(22') 配列番号：22に記載の塩基配列の481位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：22に記載の塩基配列の481位の塩基部位が、TからCへの変異である。

(23') 配列番号：23に記載の塩基配列の131位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：23に記載の塩基配列の131位の塩基部位が、GからCへの変異である。

(24') 配列番号：24に記載の塩基配列の510位の塩基がA。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：24に記載の塩基配列の510位の塩基部位が、GからAへの変異である。

(25') 配列番号：25に記載の塩基配列の248位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：25に記載の塩基配列の248位の塩基部位が、CからTへの変異である。

(26') 配列番号：26に記載の塩基配列の92位の塩基がC。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：26に記載の塩基配列の92位の塩基部位が、GからCへの変異である。

(27') 配列番号：27に記載の塩基配列の743位の塩基がG。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：27に記載の塩基配列の743位の塩基部位が、AからGへの変異である。

(28') 配列番号：28に記載の塩基配列の552位の塩基がT。より詳しくは、「日本晴」ゲノムにおける配列番号：28に記載の塩基配列の552位の塩基部位が、CからTへの変異である。

【0021】

本発明において「塩基種を判定する」とは、通常、品種を鑑別したいイネ（以下「被検イネ」と記載する場合あり）のゲノム上の上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位における塩基の種類を決定することを指すが、必ずしも塩基の具体的な種類まで決定する必要はない。被検イネのゲノムにおける上記（1）～

(28) のいずれかに記載の部位の塩基種が具体的に決定できなくても、日本晴と同一か否かが判明すれば、イネ品種の鑑別を行うことが可能である。

【0022】

本発明の方法においては、次いで、上記工程 (A) により判定された塩基種と品種を関連付ける (工程 (B))。

【0023】

本発明に方法において、鑑別が可能なイネ品種は、次の通りである (本明細書においては各品種名をそれぞれ括弧内に示すように略記する場合あり)。日本晴 (nhb)、ハツシモ (hts)、むつほまれ (mth)、ゆきの精 (yki)、きらら 397 (krr)、つがるロマン (tgr)、五百万石 (ghm)、森のくまさん (mnk)、ゆめあかり (yma)、ハナエチゼン (hez)、コシヒカリ (ksh)、月の光 (tkh)、あきたこまち (akk)、朝の光 (ash)、あいちのかおり (ank)、祭り晴 (mtb)、ヒノヒカリ (hnh)、夢つくし (ymt)、ひとめぼれ (hit)、まなむすめ (mmm)、ふさおとめ (fom)、どんとこい (don)、キヌヒカリ (knh)、ササニシキ (ssk)、アケボノ (akb)、ゴロピカリ (grp)。

【0024】

本発明の鑑別方法は、通常、品種が不明なイネについて上記の品種の中から品種名を特定する、もしくは、上記の品種であるか否かを判別するために利用することができる。

【0025】

本発明者らは、上記のイネ品種について、イネゲノムにおける上記 (1) ~ (28) に記載の部位の塩基種を決定し、多型マーカーを作成した。これらの多型マーカーの詳細 (多型マーカーの名称、および、各イネ品種における上記 (1) ~ (28) に記載の部位の塩基種) を表 1 に示す。

【0026】

【表1】

マーカー名	配列番号	位	SNP Detection																										
			日本晴	ハッシー	むつほまれ	ゆきの精	きらら397	つがるロマン	五百万石	森のくまさん	ゆめあかり	ハナエチゼン	コシヒカリ	月の光	あきたこまち	朝の光	あいちのかおり	祭り晴	ヒノヒカリ	夢つくし	ひとめぼれ	まなむすめ	ふさおとめ	どんとこい	キヌヒカリ	ササニシキ	アケボノ	コロピカリ	
	S0015	1	593	C	C	C	C	T	T	C	T	T	C	T	T	T	C	C	T	C	C	T	T	T	T	C	T	C	T
	S0040	2	304	T	T	T	A	A	A	A	A	A	A	T	A	T	C	T	A	T	A	A	A	T	T	T	A	T	A
	S0279	3	450	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0044	4	377	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0252	5	163	T	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0109	6	624	T	T	C	T	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0115	7	534	T	G	G	G	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0107	8	358	A	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
	S0126	9	475	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0124	10	323	G	G	G	G	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
	S0146	11	612	C	C	C	C	A	A	C	A	C	A	A	A	A	C	A	C	A	C	C	C	C	A	A	C	C	C
	S0135	12	765	G	G	G	G	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0155	13	571	G	G	T	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0161	14	660	A	G	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0177	15	223	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0178	16	247	C	C	C	C	T	C	T	C	C	T	T	C	C	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0174	17	163	G	G	G	G	A	A	C	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0185	18	421	A	A	A	A	A	A	C	C	C	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0208	19	178	C	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
	S0007	20	141	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0070	21	480	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0310	22	481	T	T	T	T	C	C	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	S0375	23	131	G	G	C	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
	S0346	24	510	G	G	G	G	A	G	A	G	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0013	25	248	C	C	C	C	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
	S0347	26	92	C	C	C	G	C	G	C	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
	S0330	27	743	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	S0336	28	552	C	C	T	C	T	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

【0027】

本発明においては、被検イネのゲノムにおける上記(1)～(28)に記載の部位の塩基種を決定することにより、表1に示される各イネ品種における塩基種のデータに基づいてイネ品種を判定することができる。本発明の好ましい態様に

においては、上記（１'）～（２８'）に記載の多型マーカーを利用して塩基種の判定を行う。本方法においては、必ずしも上記（１）～（２８）の記載の全ての部位について塩基種を決定する必要はない。例えば、多型マーカー「S0124」を利用し、上記（１０）の配列番号：１０に記載の塩基配列の３２３位の塩基種の判定を行い、判定された塩基がＡ（アデニン）である場合には、被検イネの品種は、「きらら３９７」であると判定される。また、多型マーカー「S0126」および「S0015」を用いて塩基種の判定を行い、上記（９）の配列番号：９に記載の塩基配列の４７５位の塩基種がＧであり、かつ、上記（１）の配列番号：１に記載の塩基配列の５９３位の塩基種がＣである場合には、被検イネの品種は、「ゆきの精」であると判定される。このように、決定された被検イネゲノムの上記（１）～（２８）に記載の部位の塩基種から、本発明によって提供される表１に基づいてイネ品種を判定することは、当業者においては、容易に行い得ることである。

【００２８】

さらに本発明の方法においては、上記（１）～（２８）に記載の部位において必ずしも塩基種を決定する必要はなく、被検イネのゲノムにおける上記（１）～（２８）に記載の部位と塩基種が、日本晴における該部位の塩基種とが同一であるか否かを調べることにより、イネ品種の鑑別を行うことができる。本発明の好ましい態様においては、上記（１'）～（２８'）に記載の多型マーカーを利用して、被検イネのゲノムにおける上記（１）～（２８）に記載の部位の塩基種が、日本晴における該部位の塩基種と同一か否かに基づいてイネ品種の判定を行う。

【００２９】

本発明者らは、イネの上述した各品種について上記（１）～（２８）に記載の各部位の塩基種が、「日本晴」の該部位における塩基種と同一であるか否かを調べ、上述した各品種を鑑別可能な、多型マーカーの組み合わせを決定した（表２～７）。表２～７の網掛けで示す部分が、各品種を鑑別可能な多型マーカーの組み合わせの例である。必ずしも表２～７に掲げた多型マーカーの組み合わせに限定されるものではなく、当業者においては、本発明によって提供される２６品種

のイネゲノムの上記(1)～(28)に記載の部位の塩基種についての情報から、品種鑑別に用いることが可能な多型マーカーの組み合わせを適宜選択することが可能である。表中○は「日本晴」との一致を表し、×は「日本晴」との不一致を表す。

【0030】

【表2】

マーカー	日本晴	日本晴	ハツシモ	むつほまれ	ゆきの精	きらら397
口口ヒカリ	×	○	×	○	○	○
アケボノ	×	×	○	×	○	○
ササニシキ	×	×	×	×	×	×
サヌヒカリ	×	×	×	×	×	×
どんとこい	×	×	×	×	×	×
ふさおとめ	×	×	×	×	×	×
まなむすめ	×	×	×	×	×	×
ひとめぼれ	×	×	×	×	×	×
夢つくし	×	×	×	×	×	×
ヒノヒカリ	×	×	×	×	×	×
祭り晴	×	×	×	×	×	×
あいちのかおり	×	×	×	×	×	×
朝の光	×	×	×	×	×	×
あきたこまち	×	×	×	×	×	×
月の光	×	○	×	○	×	×
コシヒカリ	×	×	×	×	×	×
ハナエチゼン	×	○	×	○	×	×
ゆめあかり	×	×	×	×	×	×
森のくまさん	×	×	×	×	×	×
五百万石	×	×	×	×	×	×
つがるロマン	×	×	×	×	×	×
きらら397	×	×	×	×	×	×
ゆきの精	×	×	×	×	×	×
むつほまれ	×	×	×	×	×	×
ハツシモ	○	×	○	×	○	×
日本晴	○	×	○	×	○	×
S0107	○	×	○	×	○	×
S0177	○	×	○	×	○	×
S0185	○	×	○	×	○	×
S0070	○	×	○	×	○	×
S0161	○	×	○	×	○	×
S0109	○	×	○	×	○	×
S0126	○	×	○	×	○	×
S0015	○	×	○	×	○	×
S0124	○	×	○	×	○	×

【0031】

【表 3】

[illegible]

【 0 0 3 2 】

【表4】

マーカー	口口ピカリ	アケボノ	ササニシキ	キヌヒカリ	どんとこい	ふさおとめ	まなむすめ	ひとめぼれ	夢つくし	ヒノヒカリ	祭り晴	あいちのかおり	朝の光	あきたこまち	月の光	コシヒカリ	ハナエチゼン	ゆめあかり	森のくまさん	五百万石	つがるロマン	きらら397	ゆきの精	むつほまれ	ハッシー	日本晴
マーカー	×	○	×	○	×	×	×	×	○	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	○
コシヒカリ	×	○	×	○	×	×	×	×	○	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	○
S0040	×	○	×	○	×	×	×	×	○	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	○
S0044	×	○	×	○	×	×	×	×	○	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	○
月の光	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0279	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0107	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
あきたこまち	×	○	○	○	○	×	×	×	×	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0115	×	○	○	○	○	×	×	×	×	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0146	×	○	○	○	○	×	×	×	×	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0178	×	○	○	○	○	×	×	×	×	×	○	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
朝の光	○	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0208	○	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0146	○	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0177	○	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

【0033】

【表5】

マーカー	コロピカリ	○	○	×	○
あいちのかおり	アケボノ	○	○	○	○
S0109	ササニシキ	○	○	○	○
S0155	キヌヒカリ	×	○	×	×
S0174	どんとこい	×	×	×	×
	ふさおとめ	×	○	×	×
	まなむすめ	×	○	×	×
	ひとめぼれ	×	○	×	×
	夢つくし	×	○	×	×
	ヒノヒカリ	×	×	×	×
	祭り晴	○	×	○	×
	あいちのかおり	×	○	○	○
	朝の光	○	○	○	○
	あきたこまち	×	×	×	×
	月の光	○	×	○	×
	コシヒカリ	×	○	×	×
	ハナエチゼン	○	○	×	×
	ゆめあかり	×	×	×	×
	森のくまさん	×	×	×	×
	五百万石	×	×	○	×
	つがるロマン	×	×	×	×
	きらら397	×	×	○	×
	ゆきの精	○	○	○	○
	むつほまれ	×	×	○	○
	ハッシモ	○	○	○	○
	日本晴	○	○	○	○
	祭り晴	○	○	×	○
	S0109	○	○	×	○
	S0208	○	×	×	○
	S0146	○	○	○	○
	ヒノヒカリ	×	×	×	×
	S0015	○	○	○	○
	S0155	○	○	×	○
	S0174	○	○	○	○

【0034】

【表6】

マーカー	ひとめぼれ	ひとめぼれ	まなむすめ	ふさおとめ	どんとこい
口ロピカリ	○	○	○	○	○
アケボノ	○	○	○	○	○
ササニシキ	○	○	○	○	○
キヌヒカリ	×	×	×	×	×
どんとこい	×	×	○	×	×
ふさおとめ	○	×	×	×	×
まなむすめ	○	×	×	×	×
ひとめぼれ	○	×	×	○	○
夢つくし	×	×	×	○	○
ヒノヒカリ	○	○	×	○	○
祭り晴	○	○	○	○	○
あいちのかおり	○	○	×	○	○
朝の光	○	○	○	○	○
あきたこまち	○	○	×	○	○
月の光	○	○	○	○	○
コシヒカリ	×	×	×	○	○
ハナエチゼン	○	○	×	×	×
ゆめあかり	○	○	○	×	×
森のくまさん	○	○	×	○	○
五百万石	○	×	○	○	○
つがるロマン	○	○	○	×	×
きらら397	○	○	×	×	×
ゆきの精	○	○	×	×	×
むつほまれ	○	○	×	×	×
ハッシモ	○	○	×	×	×
日本晴	○	○	○	○	○

【0035】

【表7】

マーカー	日本晴	ハッシー	むつほまれ	ゆきの精	きらら397	つがるロマン	五百万石	森のくまさん	ゆめあかり	ハナエチゼン	コシヒカリ	月の光	あきたこまち	朝の光	あいちのかおり	祭り晴	ヒノヒカリ	夢つくし	ひとめぼれ	まなむすめ	ふれおとめ	どんとこい	キヌヒカリ	わかニシキ	アケボノ	ゴロピカリ
S0044	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○
S0015	○	○	○	○	×	○	○	×	○	○	×	×	×	○	○	×	○	○	×	○	×	×	○	×	○	×
ササニシキ																										
S0126	○	○	○	×	○	○	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○
S0252	○	×	×	×	×	○	○	○	×	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○
アケボノ																										
S0161	○	×	×	○	○	×	○	○	×	○	○	○	×	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○
S0007	○	○	○	×	×	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○
ゴロピカリ																										
S0177	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0155	○	○	×	×	×	×	×	×	×	○	○	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
S0115	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

【0036】

例えば、被検イネについて、多型マーカー「S0135」を利用し、上記（12）の配列番号：12に記載の塩基配列の765位の塩基種の判定を行い、該部位の塩基種が「日本晴」における該部位の塩基種と不一致であり、かつ、多型マーカー「S0208」を用いて塩基種の判定を行い、上記（19）の配列番号：19に記載の塩基配列の178位の塩基種が「日本晴」と一致する場合には、被検イネの品種は、「ふさおとめ」とであると判定される。上記（1'）～（28'）に記載の各多型マーカーを用いて、上記（1）～（28）に記載の各塩基部位における塩基種の判定を行い、該部位における塩基種が、「日本晴」における該部位の塩基種と一致するか否かが判明すれば、表2～7を参照して、被検イネの品種を判定することは容易に行い得ることである。

【0037】

本発明の上記工程（A）の塩基種の判定は、当業者においては、公知の塩基配列決定法もしくは多型変異検出法等により、実施することができる。例えば、本発明の好ましい態様において、下記のような方法により行うことができる。まず、被検イネからDNAを調製する。本発明において、被検イネとしては、例えば、上記イネの葉、根、種子、カルス、葉鞘、培養細胞等を挙げることができるが、これらに限定されない。また、当業者であれば、DNAを上記被検イネから抽出した染色体DNAを基に調製することができる。例えば、アルカリ性の水性溶媒中でイネの種子を粉碎し、次いで、粉碎した種子からイネゲノムDNAを抽出する方法を好適に示すことができるが、特にこの方法に制限されない。また上記種子は、精米されていることが好ましい。

【0038】

本方法においては、次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する。本発明において、DNAの増幅方法としては、PCR法が挙げられるが、DNAを増幅できる方法であれば特に制限されない。

【0039】

本方法においては、次いで、増幅したDNAの塩基配列を決定する。DNAの塩基配

列の決定は、当業者に公知の方法で行うことができる。

【0040】

本方法においては、次いで、決定したDNAの塩基配列を、対照と比較する。本方法における対照とは、通常、「日本晴」であり、配列番号：1～28に記載された配列である。あるいは、当業者においては、各種遺伝子データベースまたは文献等から野生型日本晴ゲノムの塩基配列情報を取得することも可能である。本方法においては、対照と比較することにより、被検イネのゲノムに多型を有するか否かの判定を行う。

【0041】

本発明のイネ品種鑑別方法は、上記の如く直接被検イネ由来のDNAの塩基配列を決定する方法以外に、多型の検出が可能な種々の方法に従って行うことができる。例えば、本発明のイネ品種鑑別方法は、以下のような方法によって行うことも可能である。

【0042】

まず、被検イネからDNAを調製する。次いで、調製したDNAを制限酵素により切断する。次いで、DNA断片をその大きさに応じて分離する。次いで、検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する。また、他の一つの態様においては、まず、被検イネからDNAを調製する。次いで、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する。さらに、増幅したDNAを制限酵素により切断する。次いで、DNA断片をその大きさに応じて分離する。次いで、検出されたDNA断片の大きさを対照と比較する。

【0043】

このような方法としては、例えば、制限酵素断片長多型 (Restriction Fragment Length Polymorphism/RFLP) を利用した方法やPCR-RFLP法等が挙げられる。具体的には、制限酵素の認識部位に変異が存在する場合、あるいは制限酵素処理によって生じるDNA断片内に塩基挿入または欠失がある場合、制限酵素処理後に生じる断片の大きさが対照と比較して変化する。この変異を含む部分をPCR法によって増幅し、それぞれの制限酵素で処理することによって、これらの変異を電

電気泳動後のバンドの移動度の差として検出することができる。あるいは、染色体DNAをこれらの制限酵素によって処理し、電気泳動した後、本発明のオリゴヌクレオチドを用いてサザンブロッティングを行うことにより、変異の有無を検出することができる。用いられる制限酵素は、それぞれの変異に応じて当業者においては適宜選択することができる。

【0044】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する。次いで、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する。さらに、増幅したDNAを一本鎖に解離させる。次いで、解離させた一本鎖DNAを非変性ゲル上で分離する。分離した一本鎖DNAのゲル上での移動度を対照と比較する。

【0045】

上記方法としては、例えばPCR-SSCP(single-strand conformation polymorphism、一本鎖高次構造多型)法(Cloning and polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism analysis of anonymous Alu repeats on chromosome 11. Genomics. 1992 Jan 1; 12(1): 139-146.、Detection of p53 gene mutations in human brain tumors by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products. Oncogene. 1991 Aug 1; 6(8): 1313-1318.、Multiple fluorescence-based PCR-SSCP analysis with postlabeling.、PCR Methods Appl. 1995 Apr 1; 4(5): 275-282.)が挙げられる。この方法は操作が比較的簡便であり、また被検試料の量も少なく済む等の利点を有するため、特に多数のDNA試料をスクリーニングするのに好適である。その原理は次の通りである。二本鎖DNA断片を一本鎖に解離すると、各鎖はその塩基配列に依存した独自の高次構造を形成する。この解離したDNA鎖を、変性剤を含まないポリアクリルアミドゲル中で電気泳動すると、それぞれの高次構造の差に応じて、相補的な同じ鎖長の一本鎖DNAが異なる位置に移動する。一塩基の置換によってもこの一本鎖DNAの高次構造は変化し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動において異なる移動度を示す。従って、この移動度の変化を検出することによりDNA断片に点突然変異や欠失、あるいは挿入等による変異が存在することを

検出することができる。

【0046】

具体的には、まず、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAをPCR法等によって増幅する。増幅される範囲としては、通常200～400bp程度の長さが好ましい。PCRは、当業者においては反応条件等を適宜選択して行うことができる。PCRの際に、³²P等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識したプライマーを用いることにより、増幅DNA産物を標識することができる。あるいはPCR反応液に³²P等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を加えてPCRを行うことにより、増幅DNA産物を標識することも可能である。さらに、PCR反応後にクレノウ酵素等を用いて、³²P等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を、増幅DNA断片に付加することによっても標識を行うことができる。こうして得られた標識DNA断片を、熱を加えること等により変性させ、尿素などの変性剤を含まないポリアクリルアミドゲルによって電気泳動を行う。この際、ポリアクリルアミドゲルに適量(5から10%程度)のグリセロールを添加することにより、DNA断片の分離の条件を改善することができる。また、泳動条件は各DNA断片の性質により変動するが、通常、室温(20から25℃)で行い、好ましい分離が得られないときには4から30℃までの温度で最適の移動度を与える温度の検討を行う。電気泳動後、DNA断片の移動度を、X線フィルムを用いたオートラジオグラフィーや、蛍光を検出するスキャナー等で検出し、解析を行う。移動度に差があるバンドが検出された場合、このバンドを直接ゲルから切り出し、PCRによって再度増幅し、それを直接シーケンシングすることにより、変異の存在を確認することができる。また、標識したDNAを使わない場合においても、電気泳動後のゲルをエチジウムブロマイドや銀染色法などによって染色することによって、バンドを検出することができる。

【0047】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する(工程(a))。次いで、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位にお

ける塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA近傍の塩基配列と相補的なオリゴヌクレオチドに、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光の2つを標識したプローブを2種類合成する（工程（b））。次いで、工程（a）で調製したDNAに、工程（b）で合成したプローブをハイブリダイズさせる（工程（c））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する（工程（d））。次いで、レポーター蛍光の発光を検出する（工程（e））。次いで、工程（e）で検出したレポーター蛍光の発光を対照と比較する（工程（f））。

【0048】

上記方法としては、TaqMan PCR法（SNP遺伝子多型の戦略、松原謙一・榊佳之、中山書店、p94-105、Genet Anal. (1999)14:143-149）等を挙げることができる。具体的には、まず、プローブの5'末端にレポーター蛍光を標識する。本発明において、レポーター蛍光としては、FAMやVICなどが例示できるが、これらに限定されない。さらに、上記プローブの3'末端にクエンチャー蛍光を標識する。本発明において、クエンチャー蛍光としては、レポーター蛍光を消光できる物質であれば特に制限されない。次いで、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光を標識したプローブを、調製したDNAにハイブリダイズさせる。通常、ハイブリダイズはストリンジントな条件下で行う。ストリンジントな条件とは、例えば、通常、42℃、2×SSC、0.1%SDSの条件であり、好ましくは50℃、2×SSC、0.1%SDSの条件であり、さらに好ましくは、65℃、0.1×SSCおよび0.1%SDSの条件であるが、これらの条件に特に制限されない。ハイブリダイゼーションのストリンジエンシーに影響する要素としては温度や塩濃度など複数の要素が考えられ、当業者であればこれら要素を適宜選択することで最適なストリンジエンシーを実現することが可能である。

【0049】

次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを、5'ヌクレアーゼ活性を有するDNAポリメラーゼを用いて増幅する。その結果、レポーター蛍光とクエンチャー蛍光を標識したプローブのレポーター蛍光標識部分が切断され、レポ

ーター蛍光が遊離する。本発明において、5'ヌクレアーゼ活性を有するDNAポリメラーゼとしては、好適にはTaqDNAポリメラーゼが例示できるが、これに限定されるものではない。本方法においては、次いで、遊離したレポーター蛍光を検出し、さらに、該レポーター蛍光の発光を対照と比較する。

【0050】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含む3'側塩基配列と相補的な配列、および全く無関係な配列を合わせたプローブを合成する（工程（b））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から5'末端側が相補的なプローブを合成する（工程（c））。次いで、工程（c）で合成したプローブと工程（a）で調製したDNAとハイブリダイズさせる（工程（d））。次いで、工程（d）でハイブリダイズしたDNAを一本鎖DNA切断酵素で切断し、工程（b）で合成したプローブの一部を遊離させる（工程（e））。本発明において、一本鎖DNA切断酵素としては、特に制限はなく、例えば下記のcleavaseが例示できる。本方法においては、次いで、工程（e）で遊離したプローブと、検出用プローブとをハイブリダイズさせる（工程（f））。次いで、工程（f）でハイブリダイズしたDNAを酵素的に切断し、その際に発生する蛍光の強度を測定する（工程（g））。次いで、工程（g）で測定した蛍光の強度を対照と比較する（工程（h））。

【0051】

上記方法としては、例えば、Invader法（SNP遺伝子多型の戦略、松原謙一・柳佳之、中山書店、p94-105、Genome Research（2000）10:330-343）等が挙げられる。具体的には、まず、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から3'側が鋳型と相補的な配列であり、5'側が鋳型配列と無関係な配列（フラップ）を有するプローブ（プローブA）を合成する。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位から5'側が鋳型と相補的な配列を有するプローブ（プローブB）を合成する。プロ-

ブBにおいては、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位に対応する塩基は任意でよい。次いで、これらプローブを調製した鋳型DNAにハイブリダイズさせる。次いで、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位に対応するプローブBの塩基が侵入することで、5'末端がフラップ状になっている部分を認識して、該部位に対応するプローブAの塩基の3'側を切断するエンドヌクレアーゼ(cleavase)を用いてハイブリダイズしたDNAを切断する。これにより、フラップ部分が遊離する。次いで、遊離したフラップ部分と検出用プローブをハイブリダイズさせる。該検出用プローブは、一般的にfluorescence resonance energy transfer (FRET) プローブとよばれる。該プローブにおいて、5'側は自身で相補的に結合できる。また、3'側はフラップと相補的な配列を有している。また、自身で相補的に結合できる5'側において、5'末端にはレポーター蛍光が標識され、該5'末端の3'側にはクエンチャー蛍光が標識されている。遊離したフラップの3'末端の塩基が、FRETプローブにハイブリダイズする結果、該プローブのレポーター蛍光が標識された相補結合部位に侵入することで、cleavaseが認識する構造が生成される。本方法においては、cleavaseによるレポーター蛍光標識部分の切断によって遊離したレポーター蛍光を検出し、さらに、測定した蛍光の強度を対照と比較する。

【0052】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する(工程(a))。次いで、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する(工程(b))。次いで、増幅したDNAを一本鎖に解離させる(工程(c))。次いで、解離させた一本鎖DNAのうち、片鎖のみを分離する(工程(d))。次いで、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の近傍より1塩基ずつ伸長反応を行い、その際に生成されるピロリン酸を酵素的に発光させ、発光の強度を測定する(工程(e))。次いで、工程(e)で測定した蛍光の強度を対照と比較する(工程(f))。このような方法としては、例えば、Pyrosequencing法(Anal. Biochem. (20

00)10:103-110) 等が挙げられる。

【0053】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する（工程（b））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する（工程（c））。次いで、蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程（b）で増幅したDNAを鋳型とし、工程（c）で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う（工程（d））。次いで、蛍光の偏光度を測定する（工程（e））。次いで、工程（e）で測定した蛍光の偏光度を対照と比較する（工程（f））。このような方法としては、例えば、Acyclo Prime法（Genome Research (1999)9:492-498）等が挙げられる。

【0054】

Acyclo Prime法では、ゲノム増幅用のプライマー1組と、SNPs検出用の1つのプライマーを用いる。まず、ゲノムのSNPsを含む領域をPCRで増幅する。この工程は、通常のゲノムPCRと同じである。次に、得られたPCR産物に対して、多型検出用のプライマーをアニールさせ、伸長反応を行う。多型検出用のプライマーは、検出対象となっている多型部位に隣接する領域にアニールするようにデザインされている。このとき、通常、伸長反応のためのヌクレオチド基質として、蛍光偏光色素でラベルし、かつ3'-OHをブロックしたヌクレオチド誘導体（ターミネータ）を用いる。その結果、多型部位に相当する位置の塩基に相補的な塩基が1塩基だけ取りこまれて伸長反応が停止する。ヌクレオチド誘導体のプライマーへの取りこみは、分子量の増大による蛍光偏光(Fluorescence polarization;FP)の増加によって検出することができる。蛍光偏光色素に波長の異なる2種類のラベルを用いれば、特定の多型が2種類の塩基のうちのいずれであるのかを特定することができる。蛍光偏光のレベルは定量することができるので、1度の解析でアレルがホモかヘテロかを判定することもできる。本発明の方法における上記工程（A）は、Acyclo Prime法を利用して好適に実施することができる。

【0055】

Acyclo Prime法に使用されるゲノム増幅用プライマー、および多型検出用プライマーは、当業者においては、ゲノム配列および多型部位に関する情報を基に、適宜作製することが可能である。Acyclo Prime法を利用した本発明のイネ品種鑑別方法に使用されるゲノム増幅用プライマー、および多型検出用プライマーとして、例えば、表8および9に記載されたプライマーを挙げることができるが、これらのプライマーに限定されるものではない。

【0056】

【表8】

chr	em	マーカー名	プライマーの塩基配列(5'-3')	配列番号	塩基位置	プライマーの塩基配列(5'-3')	配列番号	塩基位置	Terminator	SNP
1	96.1	S0015	GCA ATT GCC ACT GGA AGA AT	29	808bp	AGG TCG ACA CTT CGG CCG TT	1	593	C/T	日本晴 日本晴以外
3	20.3	S0040	TAA GTT GGG GAA TGC GAT GT	30	902bp	GAA CAG CTG TAA TAA GAC TGA	2	304	A/T	日本晴 日本晴以外
3	69.2	S0278	TCT GCT GCC TCT GCA CAT AC	31	798bp	GAT GCC TGC AAA GTC CCG AC	3	450	C/T	日本晴 日本晴以外
3	146.4	S0044	AAA AAC GAC ACC ACA TCA GCA	32	901bp	CGC AAA CCA TCA ACT TAC AA	4	377	C/T	日本晴 日本晴以外
6	19.1	S0252	GGG GCG CTC CTT CAA AAC TT	33	804bp	CGA TTG GCA GAT AAA GTT GGA T	5	163	C/T	日本晴 日本晴以外
7	35.7	S0109	GGT TTG GCA CAC CAC AAT GG	34	850bp	TGG CTA GAA GTA GAT GCT GC	6	824	C/T	日本晴 日本晴以外
7	84.1	S0115	TAT GAC AAG GTG GGC CCT AA	35	784bp	AAA CAG GTG AGG GAA AGA TG	7	534	G/T	日本晴 日本晴以外
7	91.7	S0107	CGC CAC AGA ACG GAC AAA AG	36	808bp	GAC TCA AAA GTT GTG TGT GT	8	358	A/G	日本晴 日本晴以外
7	99.3	S0126	GAC CAA TCC TTT GGC GAA GC	37	791bp	CAT GAA ATT ATT ACA GAA CTA CAG A	9	475	G/T	日本晴 日本晴以外
7	105.7	S0124	CCG ATG GCA GCA CAA ATC TT	38	956bp	AGC ACC TCC CCC TCC TCT AA	10	323	A/G	日本晴 日本晴以外
8	20.2	S0146	TCA GTT TGG CTT GGG TGT CC	39	859bp	GGA ACT AGC CCG TGA CGC TC	11	812	A/C	日本晴 日本晴以外
8	44.6	S0135	CCA TTG GTT GGT GTG GCT GT	40	852bp	GAG AGT CGA GAT GAT CCA AA	12	765	G/T	日本晴 日本晴以外
9	55.9	S0155	TGG TCG CGG CTG ATA AGC TA	41	1300bp	CAG CTA TAG CCT AGC TTG GA	13	571	G/T	日本晴 日本晴以外
10	5.5	S0161	TGC GAT GGA GGC AGT ATT GG	42	340bp	GAA GAC AGC TTC TGC TTG TTT GT	14	660	A/G	日本晴 日本晴以外
			CGC CAA CCT CGT AAA TCA AA	43						
			GAA CCT GAG GAC CAA GTG AAA GAG T	44						
			CTA GAG AGG AGA GGG AGA AGG AGG A	45						
			ATA CCA CAG GTG CTG CGT GA	46						
			TGC GCA ACT AGG GAT TTT CC	47						
				48						
				49						
				50						
				51						
				52						
				53						
				54						
				55						
				56						

【0057】

【表9】

染色体		マーカー名		プライマーの塩基配列(5'-3')		配列番号	長さ	配列番号	位置	プライマーの塩基配列(5'-3')		mer	配列番号	Terminator	SNPs	
11	20.3	S0177	CCT TGT GGT CAC ACT TGC GG	57	20	488bp	15	223	AAC GTC ATG GAC GAT CCG CT	20	99	A/Q	日本晴	G	日本晴以外	
			CGG TCT TGA GGT CCA GGG TG	58	20											日本晴以外
11	35.6	S0178	TGG CAT CTT TGC ATG TTG ACC	59	21	460bp	16	247	GCC ATG AAA GCA CTG AAA AA	20	100	C/T	日本晴	C	日本晴以外	
			GCA TCC ACC TGC ACA TTT CC	60	20											日本晴以外
11	80.5	S0174	GAA TCG GTT GCA GGA GAG GG	61	20	311bp	17	163	TTG AGT TCT TGG GGA TTT GT	20	101	A/Q	日本晴	G	日本晴以外	
			GCG GCT ATG CCA TGT TTT TAC C	62	22											日本晴以外
11	85.7	S0185	CGA CCC CAT GAA GCT TTT GC	63	20	644bp	18	421	TGT TAC AAG CAA AGC ATG AGG AAT G	25	102	A/C	日本晴	A	日本晴以外	
			AAA TCC ACG ACC TCC ACC CCT	64	21											日本晴以外
12	42.7	S0208	CTC CCT CCG CTC CCA GAA AT	65	20	500bp	19	178	AGC TCG AGC TCG AAG ATG GC	20	103	C/G	日本晴	C	日本晴以外	
			ATT TTG GTG GAG CGT CCC CT	66	20											日本晴以外
1	181.8	S0007	GCA TGG ATG ACC CTG CTA AT	67	20	802bp	20	141	CAA ACA TTT AAA ATA TAA ATC ATG AAT A	28	104	A/G	日本晴	A	日本晴以外	
			TGA TGC CGT TGA CTT TTT GA	68	20											日本晴以外
5	55.5	S0070	CTT GCT TGG GCA ATC GTC AA	69	20	897bp	21	480	TAA GCC CCC GGC CGA ACC GGC AAA G	25	105	A/Q	日本晴	A	日本晴以外	
			GTT GCT GAC GCG ACC AGT GT	70	20											日本晴以外
8	40.2	S0310	GCT TTC CTT GTT TGA CCA CTC G	71	22	802bp	22	481	GAC TAC AAT CTT CCA CTC CA	20	106	C/T	日本晴	T	日本晴以外	
			CAA GCC ACG ACA TGA AAA TGG	72	21											日本晴以外
4	97.7	S0375	ACA CAA GTG TGC CAT TTT GC	73	20	901bp	23	131	TGT GAA CTA CAC TAT TTA GTT GCT TA	26	107	Q/C	日本晴	G	日本晴以外	
			TGT TCT CAG GTA GCT TGG CA	74	20											日本晴以外
11	35.6	S0346	CGT GCT TGG ATT TTT GTA AGC	75	21	677bp	24	510	CTG GGA CTT GGA ATG TTT GTT	21	108	G/A	日本晴	G	日本晴以外	
			GCA TCC AGC TGC ACA TTT CC	76	20											日本晴以外
1	161.5	S0013	AAA TTC GGA ATG GCT AGC TG	77	20	798bp	25	248	GCT AAT GTG AAT TAG CCC CCC T	22	109	C/T	日本晴	C	日本晴以外	
			ACC TCC GAT GAT TCA ACC AA	78	20											日本晴以外
11	55.1	S0347	CAA GCG AAG ACT GGA GAG GTT	79	21	292bp	26	92	AGT TTA ACT ATA TAT AGC ATA CTG AAT C	28	110	G/C	日本晴	C	日本晴以外	
			ACG TGC TGG CCT CCT ATG TT	80	20											日本晴以外
3	94.9	S0330	ATC AAG CAC GAT CGG AAA CG	81	20	888bp	27	743	CAT CTT ATG GTT TAG GAG GAA TT	23	111	A/G	日本晴	A	日本晴以外	
			AAC TTG GAG TCC ACG GCC AT	82	20											日本晴以外
8	55.4	S0336	GAC CAA ATT GTT TCG CCC CTA	83	21	787bp	28	552	GTC TAT TTG GTA CCA CTT TCT	21	112	C/T	日本晴	C	日本晴以外	
			GTC TTC GAG TGG TTT GAC GA	84	20											日本晴以外

【0058】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する（工程（b））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的なプライマーを合成する（工程（c））。次いで、蛍光ラベルしたヌクレオチド存在下で、工程（b）で増幅したDNAを鋳型とし、工程（c）で合成したプライマーを用いて一塩基伸長反応を行う（工程（d））。次いで、シーケンサーを利用して、工程（d）で反応に使われた塩基種を判定する（工程（e））。次いで、工程（e）で判定された塩基種を対照と比較する（工程（f））。このような方法として、例えば、SNuPe法(Rapid Commun Mass Spectrom. (2000)14:950-959)等が挙げられる。

【0059】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する（工程（b））。次いで、工程（b）で増幅したDNAを質量分析器にかけ、分子量を測定する（工程（c））。次いで、工程（c）で測定した分子量を対照と比較する（工程（d））。このような方法としては、例えば、MALDI-TOF MS法(Trends Biotechnol (2000):18:77-84)等が挙げられる。

【0060】

さらに別の方法においては、まず、被検イネからDNAを調製する（工程（a））。次いで、上記（1）～（28）のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAを増幅する（工程（b））。次いで、ヌクレオチドプローブが固定された基板を提供する（工程（c））。

【0061】

本発明において「基板」とは、ヌクレオチドを固定することが可能な板状の材

料を意味する。本発明においてヌクレオチドには、オリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチドが含まれる。本発明の基板は、ヌクレオチドを固定することが可能であれば特に制限はないが、一般にDNAアレイ技術で使用する基板を好適に用いることができる。一般にDNAアレイは、高密度に基板にプリントされた何千ものヌクレオチドで構成されている。通常これらのDNAは非透過性(non-porous)の基板の表層にプリントされる。基板の表層は、一般的にはガラスであるが、透過性(porous)の膜、例えばニトロセルロースメンブレンを使用することができる。

【0062】

本発明において、ヌクレオチドの固定(アレイ)方法として、Affymetrix社開発によるオリゴヌクレオチドを基本としたアレイが例示できる。オリゴヌクレオチドのアレイにおいて、オリゴヌクレオチドは通常インサイチュ(in situ)で合成される。例えば、photolithographicの技術(Affymetrix社)、および化学物質を固定させるためのインクジェット(Rosetta Inpharmatics社)技術等によるオリゴヌクレオチドのインサイチュ合成法が既に知られており、いずれの技術も本発明の基板の作製に利用することができる。

【0063】

基板に固定するヌクレオチドプローブは、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の多型を検出することができるものであれば、特に制限されない。即ち該プローブは、例えば、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAと特異的にハイブリダイズするようなプローブである。特異的なハイブリダイズが可能であれば、ヌクレオチドプローブは、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNAに対し、完全に相補的である必要はない。本発明において基板に結合させるヌクレオチドプローブの長さは、オリゴヌクレオチドを固定する場合は、通常10～100ベースであり、好ましくは10～50ベースであり、さらに好ましくは15～25ベースである。

【0064】

本方法においては、次いで、工程（b）のDNAと工程（c）の基板を接触させる（工程（d））。本工程により、上記ヌクレオチドプローブに対し、DNAをハイブリダイズさせる。ハイブリダイゼーションの反応液および反応条件は、基板に固定するヌクレオチドプローブの長さ等の諸要因により変動しうるが、一般的に当業者に周知の方法により行うことができる。

【0065】

本方法においては、次いで、該DNAと該基板に固定されたヌクレオチドプローブとのハイブリダイズの強度を検出する（工程（e））。この検出は、例えば、蛍光シグナルをスキャナー等によって読み取ることによって行うことができる。尚、DNAアレイにおいては、一般的にスライドガラスに固定したDNAをプローブといい、一方溶液中のラベルしたDNAをターゲットという。従って、基板に固定された上記ヌクレオチドを、本明細書においてヌクレオチドプローブと記載する。本方法においては、次いで、工程（e）で検出された強度を対照と比較する（工程（f））。

【0066】

このような方法としては、例えば、DNAアレイ法（SNP遺伝子多型の戦略、松原謙一・榊佳之、中山書店、p128-135、Nature Genetics(1999)22:164-167）等が挙げられる。

【0067】

上記の方法以外にも、特定位置の変異のみを検出する目的にはアレル特異的オリゴヌクレオチド（Allele Specific Oligonucleotide/ASO）ハイブリダイゼーション法が利用できる。変異が存在すると考えられる塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを作製し、これとDNAでハイブリダイゼーションを行わせると、変異が存在する場合、ハイブリッド形成の効率が低下する。それをサザンプロット法や、特殊な蛍光試薬がハイブリッドのギャップにインターカレーションすることにより消光する性質を利用した方法等により検出することができる。

【0068】

また本発明は、イネの品種を鑑別するためのプライマーであって、上記（1）

～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域を増幅するためのオリゴヌクレオチドを提供する。このようなオリゴヌクレオチドとしては、上記の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を挟むように設計されたオリゴヌクレオチドが挙げられる。PCRプライマーの設計および合成については、一般的に当業者に周知の方法により行うことができる。また、PCRプライマーの長さは、特に制限はないが、通常15bp～100bpであり、好ましくは17bp～30bpである。また本発明は、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位もしくは該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位の1塩基隣までの配列に相補的な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを提供する。該オリゴヌクレオチドは、例えば、Acyclo Prime法を用いる本発明のイネ品種鑑別方法のためのプライマーとして有用である。このようなオリゴヌクレオチドとして、例えば、表8または9に示されるオリゴヌクレオチドを挙げることができる。

【0069】

さらに本発明は、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位もしくは該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域とハイブリダイズし、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有する、イネ品種鑑別方法のためのオリゴヌクレオチドを提供する。該オリゴヌクレオチドは、例えばプローブとして使用される。

【0070】

該オリゴヌクレオチドは、上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域に特異的にハイブリダイズするものである。ここで「特異的にハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下（例えば、サンプルックら、Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA, 第2版1989に記載の条件）において、他のDNAとクロスハイブリダイゼーションを有意に生じないことを意味する。特異的なハイブリダイズが可能であれば、該オリゴヌクレオチドは、

上記(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位を含むDNA領域に対し、完全に相補的である必要はない。該オリゴヌクレオチドの長さは、15ヌクレオチド以上であれば、特に制限はない。該オリゴヌクレオチドは、例えば市販のオリゴヌクレオチド合成機により作製することができる。また、制限酵素処理等によって取得される二本鎖DNA断片として作製することもできる。

【0071】

また、該オリゴヌクレオチドは、適宜標識して用いることが好ましい。標識する方法としては、例えば、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いてオリゴヌクレオチドの5'端を³²Pでリン酸化することにより標識する方法、クレノウ酵素等のDNAポリメラーゼを用いてランダムヘキサマーオリゴヌクレオチド等をプライマーとして³²P等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を取り込ませる方法(ランダムプライム法)等を挙げることができる。さらに、上記の(1)～(28)のいずれかに記載の部位、または該部位における塩基と塩基対をなす相補鎖における塩基部位において、上記(1')～(28')に記載の多型変異を伴う少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するオリゴヌクレオチドもまた本発明に含まれる。

【0072】

さらに本発明は、本発明の上記オリゴヌクレオチドを含む、イネ品種鑑別用キットを提供する。本発明のキットには、さらに、アルカリ性の水性溶媒を含めることができる。また、対照となる標準イネ試料、キットの使用方法を記載した指示書等をパッケージしておくこともできる。

【0073】

【実施例】

以下、本発明を実施例により、さらに具体的に説明するが本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

【0074】

【実施例1】 多型(SNPs)の検出

Rice Genome Research Program のホームページ (<http://rgp.dna.affrc.g>

o.jp/) 上で公開されているイネゲノム解析情報、およびDDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>) に登録されているイネゲノムシーケンスを利用し、イネゲノム塩基配列情報が公開されている染色体領域については、遺伝子が予測されていない領域を中心に、それ以外の領域についてはRFLPマーカープロブのシーケンス等を利用して、ゲノムDNAから800bp~1kbpを増幅するプライマーを設計した。プライマー設計には、プライマー設計支援サイトPrimer3 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) を利用した。

【0075】

設計したプライマーをもちいてまず日本晴・コシヒカリ・カサラス・廣陸矮4号(以下G4)、キタアケ、および野生イネ (*Oryza rufipogon*, W1943) の簡易抽出DNAを鋳型としてAmpli Taq Gold(Applied Biosystems)でPCR増幅を行った。反応液の一部を用いてアガロースゲル電気泳動を行い増幅断片を確認した後、残りの反応液をExoSAP-IT (Amersham Biosciences)処理して未反応のプライマーとdNTPを取り除き、シーケンス反応の鋳型とした。この鋳型に対して、最初の増幅に用いたプライマーの片方を再度添加し、DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing kit for MegaBACE (Amersham Biosciences)を用いてサイクルシーケンスを行い、シーケンス用サンプルを作成した。シーケンスはMegaBACE 1000 DNA Sequencing System(Molecular Dynamics)を用いて行った。得られたシーケンスデータを品種ごとに比較し、一塩基置換多型を検索した。同一品種、同一プライマーに対し少なくとも2回のシーケンスを行い、確実であるもののみを多型と判定した。

【0076】

日本晴・コシヒカリ間および日本晴・キタアケ間で多型の見られた部位について、日本晴・ハツシモ・むつほまれ・ゆきの精・きらら397・つがるロマン・五百万石・森のくまさん・ゆめあかり・ハナエチゼン・コシヒカリ・月の光・あきたこまち・朝の光・あいちのかおり・祭り晴・ヒノヒカリ・夢つくし・ひとめぼれ・まなむすめ・ふさおとめ・どんとこい・キヌヒカリ・ササニシキの簡易抽出ゲノムDNAを鋳型とし、同様にPCR反応とシーケンシングを行い、多型部位の塩基を品種毎に比較した。上記イネ24品種間に見出された多型を図1~28に示す

。多型データは以下のような規則に従って記載した。

【0077】

《データ記載様式》

1. プライマー部位にカッコで印をつけ、Upper primer siteには” p:”、Lower primer siteには” q:” を付け加えた。

例: actctactta a[p:gcagagcga tgaacctgca] atattgagaa
aactc [q:aatcacgccc atccttgcct]

2. SNPs部位にはカッコと識別番号をつけた。

例: cg[1a]agag[2aa]cttc[3a[4c4]cattt gggg[5c5]acac3]c

※基本的に、識別番号は始めのカッコと終わりのカッコの両方につけた。

ただし、明らかにカッコの対応がわかる場合は、終わりカッコの識別番号は省略する場合あり。

3. 貼り付けた配列の下に、解析した品種コードを書き込んだ。

品種コードの区切りには、” /” を使った。

例: nhb/ksh/kal/gla/pwl/kta

【0078】

《品種コード》 上述の各イネ品種のアルファベット3文字からなる略称にて記載した。例えば、日本晴は「nhb」、コシヒカリは「ksh」等。

4. 品種情報の下に、SNPs情報を書き込んだ。

書き方は、「識別番号 品種コード: SNPs」

例: 1 ksh:g

【0079】

《その他の例》

5. 欠失は” - “で表した。欠失している塩基の長さに関わらず、” - “は1つとした。

例: g[5agg]ggatcat ctgttacatt atag

5kal:-

6. 欠失が同じ場所にあるが、品種によってその長さが違う場合。

例: gtttg[20a:gtat[20b:t ccattatgta ttatttcatt tgct20b]t20a]ttatg

20akal:-、20bgla:-

欠失の場所が同じなので、同じ識別番号を使った。ただし、品種による欠失の長さの違いを明確にするため、“20a:”、“20b:”のようにアルファベットで区別した。

7. 挿入の場合は、公開シーケンスに“-”を挿入する。“-”は1つとした。

例: tacaca[7-]gtca attttattca

7kal:aa

【0080】

次いで、品種鑑別に有用なSNPsについて、SNPs検出用プライマーを設計し、AcycloPrime-FPキット(Perkin Elmer)を用いて一塩基ターミネータ反応を行い、ジェノタイピング用サンプルを作成した。ジェノタイピングはARVO(Perkin Elmer)で蛍光偏光度を測定して行った。

【0081】

その結果、シーケンスでSNPsと判定した箇所について作成したマーカーは、それぞれ異なったパターンを示し、組み合わせによってさまざまに分類できることが示された(表2～7)。作成したSNPマーカーについて、プライマー配列、利用したSNP部位等の情報を表8および9に示す。

【0082】

【実施例2】 精米からのDNA抽出法の検討

精米からのDNA抽出法を検討した。まず、2mlチューブ(エッペンドルフ)に精米1粒、抽出バッファー(1M KCl、10mM Tris-HCl、1mM EDTA、0.1N NaOH) 0.4ml、3mm径のジルコニア製ボールを入れてふたをし、4℃で30分静置後、Retch社製粉砕装置ミキサーミルMM300を用いて、300Hz×2分×2回粉砕し、ミルク状の液体を得た。これを10000rpm×10分遠心分離し、上澄み0.3mlを別のチューブに移した。これにイソプロパノール0.3mlを加えてよく混合し、再度10000rpm×10分遠心分離した。上清を捨て、沈殿に70%エタノール1mlを加え、10000rpm×3分遠心分離した。上清を捨て、沈殿を乾燥して30μlの滅菌水に溶解した(方法5)。

【0083】

また別法として、方法5で別のチューブに0.3mlの上澄みを移した後にフェノ

ール・クロロホルム (1:1) 0.3mlを加えてよく混合後、10000rpm×10分遠心分離し、上清を別のチューブに移してからイソプロパノール沈殿に進む方法も行った(方法6)。

【0084】

また別法として、方法5、6で最初に用いるバッファの組成を1M KCl、10mM Tris-HCl、1mM EDTAとする方法も行った(それぞれ方法3、方法4)。

【0085】

また別法として、CTAB法による抽出も行った。具体的には、2mlチューブに精米一粒と0.2mlCTABバッファ(方法1)または0.2 ml 0.1N NaOH(方法2)、3mm径ジルコニア製ボールを入れてふたをし、方法5と同じ条件で粉碎する。これに0.7mlCTABバッファを加え56℃で20分熱処理する。640 μ lのフェノール・クロロホルム (1:1) を加えて混合し、10000rpm×10分遠心分離し、上清0.7mlを別のチューブに移した。1.3mlCTAB沈殿バッファを加え、10000rpm×10分遠心分離し、沈殿にRNaseを含む0.5ml 1N NaClを加えて溶解後、1mlエタノールを加えて混合し、10000rpm×10分遠心分離した。沈殿を1mlの70%エタノールで洗浄し、沈殿を乾燥して30 μ lの滅菌水に溶解した。

【0086】

以上の方法により得られたDNAを鋳型として、プライマーPGC1001 (配列U:5'-accgggtagggaacaaaaac -3' / 配列番号: 113、L:5'-aataatacttcggcgcacg -3' / 配列番号: 114) を用いてPCR反応を行った。

【0087】

その結果を図30に示す。方法1、2で抽出したDNAではPCR増幅が見られなかったが、方法3～6においては良好に増幅していることが確認できた。これにより、精米からのDNA抽出においてはフェノール・クロロホルム処理が必要ないことがわかり、方法3または方法5が最も簡便な方法であることが示された。方法3と方法5の違いは、方法5では粉碎時に加えるバッファがアルカリ性である。バッファをアルカリ性にするにより、精米の組織が急速にもろくなり、十分な粉碎が行いやすくなる利点がある。以上の結果から、方法5が最も簡便で効率がよいと判断した。

【0088】

【実施例3】 精米の品種鑑別

「平成12年産・茨城県産「あきたこまち」100%」と表示されて市販されている精米を購入し、32粒をランダムに選び、方法5を用いて1粒ずつ別々にDNAを抽出した。あきたこまちを他の25品種と識別するのに必要十分な3マーカー（S0115、S0146、S0178）のプライマーを使用し、抽出したDNAを鋳型としてPCR反応を行った。また、PCR産物を鋳型としてアシクロプライム反応を行い、多型（SNP）を判定した。

【0089】

その結果、27粒はあきたこまちと判定されたが、3粒はあきたこまち以外の品種であることがわかった。2粒については3つのマーカーのうち1つでデータが取れなかったため、判定できなかった。あきたこまち以外と判定された3粒については、そのパターンから「きらら397」「こしひかり」「キヌヒカリ」のいずれかであると推定された。

【0090】

以上の結果より、本発明が精米の品種鑑別に利用可能であることが実証された。

【0091】

【発明の効果】

本発明により、イネの品種鑑別方法が提供された。従来の栽培特性による鑑別では、熟練した育種家の目が必要なため、容易に鑑別することが困難であり、さらに、一粒一粒の米を鑑別することは不可能であったのに対し、本発明の方法は、イネのゲノム上の多型を調べるため、微量のイネ検体で正確な品種鑑別を行うことが可能である。また、本発明の方法は、近縁品種間における品種鑑別も正確に行うことができる。

【0092】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Plant Genome Center

National Agricultural Research Organization

<120> Method for discriminating rice cultivars

<130> P2-A0202

<140>

<141>

<160> 114

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (309)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, tkh, akk, mtb,

hit, mmm, fom, don, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (438)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, tkh, akk, mtb,
hit, mmm, fom, don, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (593)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, tkh, akk, mtb,
hit, mmm, fom, don, or ssk"
/note=" "c" replaced with "t" "

<400> 1

tattcttcac gtgattcagc gaagataaca ctctttaaac actgcaattg ccactggaag 60
aattagcacg aatttgagat gttttttcac cggaagataa gttcataact aagggttttc 120
ttcgtttcaa caaacaagat ataaagtcca accagatttt acatttttga aaacctttta 180
tctttacata tatcagtggg ggagttgaaa tgggagatac atcaactcta aattagagaa 240
attttttagga tacaactaaa caagtittaac caaatttccc ttgtcctaaa cagcaaatga 300
ttcagtgaca cattgggttg atttagcgac ttcaaacctt ttgtcttctt tttcattttt 360
caaatttcta gctctacaac taattcaatg actactcagt ttaaaacaaa acaaattggaa 420
gattgggttg gagatttaag aagaaacttg ccaggtgggtg gcttgggtccg tggaggaaaag 480
agggtcagg ggctaaccac ctgcgaactt agggctctgg cctccgtctc ccgccttttc 540
gccgagagcc cgcaaggtga cagagtgcgg cgaggtcgac acttcggccg ttcgggggtcg 600
ccgcgtcggg cgtccgggcg gcgtcgtggg tcggggggact gagggcagct actcagctag 660
accgctggag cccaaaggaa tctaagggtta catgctgtct tgttgagcct attttatggg 720
cctgcgactt tgcagttagc cgaggcatat tggaataaat ttaatttagg tctctcaatt 780
tgctcgtcag cctgaaattc atcactggac cgcaaaacta gatacatgc attccccaac 840
ttagttaagg tagcagtggg ggtgggcagc cagcgaggag ggccgtgggt gtccgtgatg 900

<210> 2

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (304)

<223> /cultivar="yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez, ksh,

akk, hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "a" replaced with "t" "

<400> 2

tttaacttta ttgtagtat tagtactagc tctggttgc tatcactctg ctgcctctgc 60
acatactgat ctagaacaca catgttctct acttctctgc agtcactgct actgacatgt 120
gggccctact ctctttgggc cagcatgtca gtgtcagcag aggatctcat tcctacagtc 180
aatccatgtg tgctactccg ttaaaaaaac gaattccaag ctacaaacct aaacacgttt 240
ttttggacgg aggggtatat ataaacaaag aaaaagcact gtaggtacat aatatagtac 300
tagatcagtc ttattacagc tgttcaaaaa cagttcagta tatagtgaat ctagttggtc 360
tggtgctact gcagttaatt ggctctggtt gcttttgttg atctgttgct actgcagtta 420
attagctccg gttgcttagt tgatcaagtt aattagctct ggctgtgccc taatcaaaat 480
tcatatatag tagcttcaag cagcacatac cacctttcct accttctggt ggatactcct 540
ctcttttata atttctgcag taagcttgaa acataagtag aactgccaat taattaaaca 600
agcacagtga attaaccag atatgtgtaa tctgcatact aattaaatta ggttcgtgcc 660
agttcaaggc agccacaacc acatacaggc gatccatata ttgatttata tatctgatcc 720
gtttgttgag gttggtgcat caatcccccc tgaagcagct atgtcgagcc taattgcgat 780
ttgattaatc aatttttctc atccaacgat ttaattatgc gtgattttaa tgattcgatc 840
ggtacagttt tttttctctt tcttcagtgc tagtgcttct actagtattc gtgacaataa 900
cctgtcggat ttggaatata tgattgctga tgtggtgtcg tttttattaa caagcccttg 960

<210> 3

<211> 840

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (201)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (356)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (450)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (514)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (515)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (552)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (695)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 3

tagcattagg ataaaagggg cgctccttca aaactttaaa atatcaaaga acaccctttt 60
gagattgaat tgcttcttct ggtctttgcc tcttctttcg cttttcagca ccagaatcgt 120
acttcctatt tctagctgac ataatgagga ttgaggaaat aagtgtcttc ctatttcata 180
aacaaaagaa aagtaatttg agtcaaacag tcacatcact atttaagttt tgattcaatc 240
gatagtttga ttcattattac atctactatt tgatacgaga ctcaatgtct caactcttaa 300
gtctaaaagt aactttccaa tgctgcacaa aggtagtagt cagggacacg aagataagtg 360
gatgagaggc actgacaaag gtagccggcc aaccgcttgg cattgatggc gcttgcccgt 420
tggtcgctcg ctgcctcgtg ttgggctggg gtcgggactt tgcaggcatc gtcatttcat 480
cgtcgaattt gaaatcgaga ttgactccag tcacacgaca tgactacaca acagtgtgac 540
ttgatctcgt tcgcctctca gcctccaatg cacctgatgg cagatgggcc tctctaatacg 600
attcacaggc agaagcagga ttgtggctcg gctatgcatt aatgtgcgcc tctccgatta 660
acttgggtgc cccaaaaaaa ttgggggaca ctctatcatc gccaatgtcg cacacaacct 720
tcgacaggct tgcccattag tgtgacactc ctgcccacat cactgctcca ttgtcatcca 780
tcacctgtc gaccattgtg gtgtgccaaa ccgcggtgtg cgtctgtttg tgattttgta 840

<210> 4

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (377)

<223> ./cultivar="ksh, ymt, don, or knh"

/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 4

```
tccaaaatcc acatgcaatg tgccattcca taggaatttc atgggatttg aaaatcgtca 60
atcctttgaa tcaaatggcc aaataggaaa atttcgtata ggatttgaat cctatgaaaa 120
tcctatataa atcctttgat tcaaagggcc ctaagtttcg tacgtgtgca actgtgcatc 180
cagcacgtac tactacgtac tcctatgtac ttgtagtggt gtagcctata catatgcatg 240
aagcgttcca ggaaaaatag gagtctcagt aatttgtgca ggcatgcggc ccatggagta 300
atagaccatg ctgaataatt tcagttcaaa tttcatactc caactgtaat accatacgca 360
aaccatcaac ttacaatact gatatacttg acatttcaaa ataacatagc ctttggtttt 420
agctgacgta gcgactgagt aagctagcac gaggtcata tgggtccac atgtcagcgg 480
cccaatcttc ttccacatct ctcctctctt cccaatccta atctctctcc atgcctctag 540
ggtggtgggg gtgggaagaa gctcgacagc ggtggccaac acatacgcaa ggagaagctc 600
gaggactgca agacgacttt cttttcgctt accactggaa ggcaacacct tgtttcctg 660
ccttctagtt gagcgaggac actgaatgca tggaggtggt gtgacccaaa tctacggcag 720
aatccctcgc cggaagttag cgggagatct agcagagaag aggcgagaag aacagggtag 780
aaaggggaaa cacgaggaag cagctgggga ggaggatatt tttcatttct ttcatgaatt 840
gttttctcaa tacagctgga gtatatatac tcacgcactc caccctctt gcccttaggg 900
cccaccttgt catagacact tctatctata aagagtagaa gatgtattca cttctgaaaa 960
```

<210> 5

<211> 840

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (163)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, yma, hez, ank, mmm,
fom, or don"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 5

```
tgctgcatgt ttcagtccaa gctaggcgcc acagaacgga caaaagtaag aaaatcgcta 60
cgtacaactc acgtctgacc agcacttagc tgctaattgc cctagccaca tggagagaag 120
ttggctctgcg tgaagcgtaa cgattggcag ataaagtggg attggatggg aatcggacga 180
gggagtcgaa cgtatagcaa cactccagaa gtaaagcagt aaaccgaaaa agttttgcta 240
tcacttgtat gaccgtctcc acaagtggcg actggcacga catggccact cgacagaacc 300
gcacaacaaa tgctgaccc tttgccctat tccatgcgaa gttgcgactt gcgagtcctt 360
gggcagggca tgcactactg acaagatgaa agaagaaaat caaccgtaat tcgggcgtgc 420
actgctgcag aatagtcctt gtgatcatgt ccatgtgacc atgttcgtta cgttctgagg 480
cgtcgatagc gagcgatgct ggtaatcgtg accaatctcg ttcacgtcca ctttgttgac 540
gcgcacgtac gtcgctatat atgacaacgt cctgctacat atagccttgc tcactttcgg 600
actttgacgt atgtgaagag agcacgacta ggagccacta atcatatggg ttggtacatg 660
agaggatatg catgtttcac tttgcacca acatgtactg tactcatcta gtcacccctac 720
tagtattttc catcgggtgc cttttctcct gtgatctctc gctttgcaca caaacctcgc 780
aacaaaacgg tctcgctgtc gcctttcagc gcttcggcaa aggattgggc ggttcatgag 840
```

<210> 6

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (515)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (624)..(626)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "tgc" deleted"

<400> 6

aattattatt attattattt ccaatcagcc atatatatgg cttgccaacc gatggcagca 60
caaatctttc gcgtccgttt gaacccattc ttcaaacttg aagttggatt tggacgtaat 120
agaaggtgca gttgttact tgttcctggc atcaacgtgt acggttgaac aaatcggtgg 180
atctcttatg gttaacgtgc cctgttgatg tctgaaaacc catctgttct ttgttctaac 240
tcctatctta tcctctcatt ttttttcgct tggctcacaac ttcgtgttct actagttttg 300
aacgagtcac tcaactggac tcgagagctc tgaacttctg aacaagccaa aatgctgtct 360
gaaccgagat cttcttggcg ctgtcagcct gtcacaaact cgcaatccaa ttgcacttcc 420
agcggttgag caggttcaat tcaacatgac tttcatcagg agatggtaag ttaggaacag 480
attactgtca caactcaca cagttattac tactatcgca acaaagtcta gctgtcctta 540
tcctcatcga ctggatactt cagaaacaag cataacagta gcattggagc aaaggacaca 600
gcatggctag aagtagatgc tgctgcctag agatatcatc tcgaattcat ggcatgaaca 660
aacgtcgttc atgcagccat gcaggaataa taagctcaga acaggattca ggacaaattc 720
aagctatcta caagcttgcc agcatcatca tattataata attgctttta tagtcagcaa 780
actcgtacag aatagccaga tccaaatttc cacaaactat atatcatcat caggaatttt 840
aaaaagagaa ctcggaatcg atttcgcatg atattcgagg acaccaagc caaactgacg 900

<210> 7

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (247)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, mnk, hez, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, or knh"
/note=" "a" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (341)..(342)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, mnk, hez, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, or knh"
/note=" "tg" replaced with "tgtg" "

<220>

<221> variation

<222> (534)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, mnk, hez, ksh, akk,
ank, hnh, ymt, hit, mmm, fom, or knh"
/note=" "a" replaced with "c" "

<400> 7

taaccacttg cttcagttgc tgcattgctta gtacatcagt actgtcatgc cattgggttg 60
tgtggctgtg agtgaacatt gtgcagcaga gaagcaagca acaatagcat tggacccccca 120
agaaccagta cattatctct atctgtgaca gagaacacaa gaatgcaa at gctgataaag 180
aatcaagaaa gcattgtgca agcagcaagg tgagtagaga gtgatggaag cagagagaag 240
ctgcagacta gtgatgaaaa tgattgggtga gtacagtgtg acaactaaca acaagtctct 300
atgaagaagc aggtactaag catgcatgtg tgtgtgtgtg tgatggcatg tggtatcaat 360
gcttctgggg ttgttcactt gtccaccaga gcaaccagga caagtcttct cactctacca 420
ttccgggtgtc attttctctc tcaaccctc ctcttgttgc tttagcaagc ctgcagctta 480
aactagatta tgttttcttt cctcaataaa gattaatagt attgttaatc atgacatctt 540
tccctcacct gtttctctct caagagagag gaggaggtgc acaggcacag acagctcaca 600
caaacattgt gttgttcatg tctctttctt gcctaccttt gttgaactgg tttgccttgg 660
gagacacaca ggacactcga ggctgccttg ctggcctctt tgcagggag aaacctgcta 720
atctgctata atagtgttgc ttataattct atgattctat ccatcacaaa ggacacagta 780
tagctgcata cttaactgc agcttgcagg ctttttcat cgtttacttg ttagcttata 840
agccgcgacc aaaattttta gtactaaaac tcaatattag agttgatgtt aggggttttt 900

<210> 8

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (247)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,

ksh, tkh, akk, ash, ank, mth, hnh, ymt, hit, mmm,

fom, don, knh, or ssk"

/note=" "a" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (259)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (307)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (358)..(359)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "ta" replaced with "tgta" "

<220>

<221> variation

<222> (396)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez,

ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (444)

<223> /cultivar="mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma, hez, .
ksh, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm,
fom, don, knh, or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 8

tgtatagtgt caaatctact cataggttgt ttgtttttgc gatggaggga gtattggttt 60
gactggatgg gtcattgaaa actggaaaag caacagcggg atgcatggca aaagaggac 120
aaaagaacaa gacgaacat aggtaggatt gcaggatgct caagtggaga cttgtagtgt 180
tagatgaagt gaagtggaca gccgaagtc cgtgaacgaa gcaacaaaaa attgtgggag 240
ttttccattt gttgtatgtg tattatttgc gatttgaaat ccaggctgtg tttagttcct 300
tccaaagtta gaagtttggg ttgaaattga taccatgtga ctgaaaagtt gtgtgtgtat 360
gacaggttga tgtgatggaa aaagtttgaa gtttgaattc aaagtttga tctaaacaca 420
gccccaatgt ttaaagagaa cttaacgat taaatttggc caccgacggg aagccgataa 480
acaaaagatg agaataaagt actgtatata caacttccag cctcatcttt tcacttatgc 540
ttatgtttat caactaaaat ttaaattttc aaccttaaatt ttagagttga ttttaggggt 600
ttttttatcg aagtttattt tttagccttt acttttagat cgttaggaaca cgtatatgaa 660
aaaattattt ttcatttgca attataccgt ttgtcttatt ccctatataa gcgaaacgag 720
ggaccttccc tgtcttgctt gtgatcatca gtcattcat ctatccgctg gatgtgaagt 780
tacgacagaa atgatccatc gttcaacttg aattacactt gtactactag cgggtgtacgc 840
tcgcatgtca gcgtaacgaa acgatgacat cgccatcaca gtaggagtat tgggtactaat 900

<210> 9

<211> 900

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (475)

<223> /cultivar="yki, yma, or ssk"

/note=" "t" replaced with "g" "

<400> 9

attacaaaaa ttatatgaac atgcttaaac aatttacaag aataattctg gttgatggct 60
tgaggcacgt caaatgttt cataaagtgt gaagtgagt taactcaact ggttatgttt 120
ttttatggaa tcagtctacc taagtgaag tcctagactt acgccgatgc ttgtatttat 180
tgttaatttt ttttcgtgc tagacgccta tcatgacttc gttaatctca agatatgctc 240
gcacagtctt tcggaggtgc tcatatgagt aagatgtgcg tgtgtacgtt catatgagtg 300
agtatacgtg tgctacgaga gtctgcgtat acagtgtgct tctacaaaaa aatgtttcag 360
agtaaatttc aaaaaactgc aggtactttg atcaaattat tataaaacta cagatttaag 420
gtgatgtatt aaaaaactac atatttaacc atgaaattat tacagaacta cagatttaag 480
attaagtatc aaaaaactac aaatttaata ataaaattat cacaaagata taggttttgg 540
ggtttaatt cttagcacta atatgttatg attgagttat aaatatctaa gttttgtaat 600
taaattgatg ctaaacatat agttccacga taattttgtt actaaatctg tagttttata 660
atattctacc ttaaattctat aattttatga gaaattcagt gttaaattctg tagttttgta 720
atatattatc ttaaatatat agttttgtga aatttaatca atgtttcaca ggagacgtgg 780
catatatgta tactccacag agcgtgtaat taaacgtaat taaaatatga ccaacatgaa 840
cgacggaaga ctacgtgtga accagccagc taattggccc tggaatccgt gatgaccaag 900

<210> 10

<211> 1020

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (209)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "g" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (323)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (758)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<400> 10

aaaagtccca cggaaacagc caaaagttaa ttaaacctta ccattgaatg cagcattggt 60
gaccttgctg cccttgaaaag cttagttagt tcattggtat caaaaggaga aatttcattcc 120
aacacggtgc actcttggtt cccttcaaag ttgctcata gcaacctttc aaatgctatt 180
ttttacagtt tagttacagt aatgctaagt actccccca ttccaaaata tagggcaca 240

cgattttttc ccctaagtgt gcataatacg aggttcgcat gcatgcgtgc atgctattga 300
ctagcacctc cccctcctct aagttctatt tttaaagcct ctaccctcaa gatctctgat 360
ctctaattccc attgggtgca tgcattttat ttattgggat gatccaaatt agaaggtgat 420
aataattttt tcttggtttt tgcgtaagag atagttgctc attatatattt ggaatgtagg 480
ggagtactca tttattctag cacaccaatc tcctgtgcac caaaagtgat tctgcacata 540
gattgagaat gcaaggtagt actaacttgc aattaagtga gtgcattaat tgctgaatat 600
gcataaatta agaacttaag atgcatgcaa agaatatgtc tcccagtttc tccactttct 660
gatgtgaact tcccttatct agatcctaca gtgggaactt ttttctgttc atcttgaagt 720
atcttttggt agctgctcat caaaataatt tatattgcct ataacataac ttataaccatt 780
ttgtcgaatg ttatttatct aacttcagt acacctatta tcttttggtg gggaagttca 840
cacttggttaa atcccattgt cttttgcaga taacagccct gtgggattat ttttgctttc 900
acatcaatgg tgtgaaacca gtgcaaagcc gtggagcttt atcgattctt tgcattggcag 960
caaagtcac tcccagcatt ttgggtactc atttgcaaga tattattgat attgggtttg 1020

<210> 11

<211> 900

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (612)..(613)

<223> /cultivar="krr, tgr, yma, ksh, tkh, akk, ash, mtb,
ymt, don, or knh"
/note=" "ca" replaced with "ag" "

<400> 11

cttaatccct taatcttcat gtttagaaga ttcgaacggg ggatccagtc ttcaacttgg 60

cacgcacacg tctcaatctg cctctccatt aatagccaaa caagctgtgt ggcttttctc 120
ttgcaacttg cagctgtgct gatgttgctg cattctgggtg aactaggcta aaaggcattt 180
tgtggtcagg cctgttttag ttttacgggtg aaaagttttg gcgtgtcaca tcggatatac 240
ggacacacat ttaaataatta aatatagtct aataacaaaa taaattacat attccgtctg 300
taaattgcga gacgaattta ttaagcctaa ttaatacttt tatcaaatca tggcgcaatt 360
aggcttaaaa gattcgtctt acaatttaca cgcaatctgt gtaattagtt tttttattta 420
tatttaatac taaatacatg tgtccaaata ttcgatgtga catgatgaaa agtttttgcg 480
tgaaaactaa acaggacctc atccacattg ccatggatac atatcattca tgccatggct 540
agctacctct tgataatagt agaattgtca cgccccgaac tagtcccgac cggaactagc 600
ccgtgacgct ccaatttaac ctgttaatcg ataccagtcc caggaaatag tgctggatatg 660
acagggagac agaatatcac agcaacagag gtctctttat tatagagtag aggtacagtc 720
atgttgggct gcggacagat cccgagctca caactgcatt acagaaggga aacggaagcc 780
aggacttga ccaaacaaca caggcgcgac ttgggaacta ggccgaaacc ctaaaactca 840
tcatagccgg ctgtctctg gaagaactcc tcatcagcag gatccgcttc atcttcttca 900

<210> 12

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (765)

<223> /cultivar="ghm, ksh, ymt, hit, mmm, fom, don, or
knh"

/note=" "g" replaced with "t" "

<400> 12

acggaaaatg atgtaatctt ggaccactct ctgtgacctg tgttatgact tatgactgtg 60
 ctgcaaaggg gagtatgaat tattgttctc aaaactagag atcactcatg ctccaggaag 120
 ccttgaattt gtcttgattt atactgaaag taacctggat tcataaaatt cttgtgttcg 180
 aagcgaatgg ttgaggaata ttatcgtttc attgagagag agatttcac tcagctagaa 240
 aagttaatac ataaaaaaat gttgctagat acctcattga agacagttaa acaccaatgg 300
 aaaaaaatg ttgcaacata tacctcattt tatttcaaca ttgcagtatt aaaagaaatc 360
 ttttatatat gctcctttta aaaaagcatc aagatgtaca agtttttagg ggtttaactt 420
 ggtcaggaag aggatgtgca tcattgtcag gaagacaacg gtgtgaaacc tgtcatgaat 480
 ggtagcctcc cgagacttga gctagaggac ctagtaacac cgaggcatca actagccagg 540
 gatgcaagta ggcaatcaat cgaccatctc tatgagagca cgcggtgctaa tttagttaa 600
 cgagtttcag atactaccta tgcctaaaa taagttaatt tttcatccat cacacatata 660
 ccaatacaaa catcaaaaga ttagaatacc agtcactaga tgaatagaag tcgggggtact 720
 caaaatcggt catatgcttg acaagagagt cgagatgac caaagtaaaa caaatacaag 780
 attattcgat tcagattgaa aacattgggt aaaagatagt tcaaagcaaa acatcggtaa 840
 taaaagatga tttaaagtga aatttgctca ttattatgat aatagctcgt ttgatttacg 900
 aggttggcga ctaattaagg cttatttagt tcccaaaata aaaaatttca cgcagtcata 960

<210> 13

<211> 668

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (571)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, ghm, mnk, yma, tkh, akk,

mtb, hnh, or don"

/note=" "g" replaced with "t" "

<400> 13

gaagcatctt aattccagac aagtcaaatt tcatagcaag ggacgatgtt atgattattt 60
attgaattgt acagtactat tcaacctgac aaacattgtg caatcacatg gaaatggagc 120
gttcatttat caaatttgca cgaattcggc gatctcaacc tcaagaggag caactaccgt 180
attcatcctc aatgttaatt tctccccgaa catattatcc tactaccgta ttcatcctca 240
atgttaattt ctccccgaac atattatcct ttcgtgcttg atctaatttt aggcatagct 300
caaaattagt gcaactaatc tacaaactgt gaatggacaa aaatatacag cttcagcttc 360
tcaaaaccac ttccccccatt cgaacctgaa caaaacccaa ctctgatggc acagtaaata 420
actaactagg gcaagaacca tcgcgcgaca cgggcgcggg ctagatcgat cgatcggctg 480
atcaagcccc tcccccaaga gggaaacacg accagcgaca gcgatccatc caacgccgtc 540
gcatcattca cagctatagc ctagcttgga ggaatcaaac catggatttt ggccttgacg 600
ttgtcgatgt gtcgctgctc tccacctga gaaacntggc cccgtcaggt cttaaatacg 660
ggtgtctt 668

<210> 14

<211> 900

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (660)

<223> /cultivar="hts, mth, tgr, yma, akk, or ank"

/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 14

ttataaccaca ggtgctgaca ttaatatgct ttacttcag tttgtgtttt gttctctgtt 60

taatcctgca tatgcctgtt aaatttatta caaagactat attaaactag ttttacctgg 120
cgaaaatatt aaactagctt tgatagttct tgttgcaaca acagaaccgt atttgtttta 180
tttcaaatat tatgttccat tagcggaaag agcttggttg ttttgttacc tctttttttt 240
ggcaaatgaa gaatgctata tacaagctag attgcaatcg tatatcagga aattgactga 300
tcatgtatgt cgacatgtcg tcttttatgg gagatgaagt tttaacttcc cccataactc 360
tgtttaggct aaatgtagtt ttgcagaaat tttctgccta aatctathtt gtactttgtt 420
gatctaacat tccttacct tagtttctcc atttatgat tgattathtt tctctgtttg 480
ttgaggcctt agcatgtttt gcttcctcct tttgctggca ggtgctgcgt gaggttacca 540
gtgatactat tggagcttgt atatgatgtg tcctttggga ccattcttct gcatagctgt 600
gcagaagctg ctactagttt gttggagaac ctgttggaag acagcttctg cttgtttgta 660
taataagatc agcttctagt tagtattact tataagttgc tgcagaatht tgtcgtttgg 720
cagcaccgca gaatttttta ctgtgtagaa gctgtagaac atctatatat cacttttcaa 780
tttgaagaat tgtaaagaga ggcaatggcc gcattctaag caggtgctct atggaaaatc 840
cctagttgcg catgtcatat agttagccat actagtatat agtagtatgt tggtaataaa 900

<210> 15

<211> 490

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (223)

<223> /cultivar="ksh, hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk,
yma, hez, tkh, akk, ash, ank, mtb, hnh, ymt, hit,
mmm, fom, don, knh, or ssk"
/note=" "g" replaced with "a" "

<400> 15

ccttgtggtc acacttgcgg cggttgcgag ggcggcccgcc ccagaagaaa ccaggccggg 60
cttggcccgcc cgcgggtcag catcctcacc gacgactcac ctgcacttct acttccacga 120
caaggtgagc aagccatcac cgacggcagt gcgggtgggtg gacccggtgg acccgtcac 180
gcggtccttc tttgggatga tcaacgtcat ggacgatccg ctgacggagg ggcccagacc 240
cgagtccaag cccatgggcc gggcccaggg gctgtacatg ggctcagacc aggccaagct 300
gggcttcctc caggcaatga acctggtgtt caccgacggc acctacaacg gcagcgtggt 360
caccgtgctc ggccgcaact gcccttcga cgacgtccgg gagatgccgg tgatcggcgg 420
caccggcgcc ttccgcttcg cccgcggcta cgcccaggcc aggacgcaca ccctggacct 480
caagaccgga 490

<210> 16

<211> 460

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (55)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"
/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (59)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (133)..(134)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "tc" replaced with "ttc" "

<220>

<221> variation

<222> (162)..(163)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "tc" replaced with "tgtc" "

<220>

<221> variation

<222> (247)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (319)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 16

tggcatcttt gcatgttgag cttaagatg tagtgggctt taactttata gaaatatagg 60
attaattcct atagaatgtc atgatgcagg atgtcattaa taatcctcca agctgttccc 120
ttttaacttt tttccctggt acttgaaact tgactaagga ttctcttcgt attaattgtgg 180
attgtgtcac tgaccatatg gttgtatctt tctttcagcg cttcgctggg acttggaatg 240
tttgttgttt ttcagtgcct tcatggccat ggaactcaga atgtctccaa cgtgcaaatt 300
cttggttgtg atctagaaga tggttatttg tttgaaacaa tggaagcact tgatgttccc 360
ttagcatata cacttgtgag cttgtgttga tagaattgta aagcttacat atgttttagt 420
tctactatta ttttgaagag ggaaatgtgc agctggatgc 460

<210> 17

<211> 314

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (163)

<223> /cultivar="ksh, tgr, mnk, yma, hez, akk, hnh, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<400> 17

ttgaatcggt tgcaggagag ggcggtggcg atggcggagt tggttgggcc gcgggtgtac 60
agctgctgct gctgccattg ccggaaccac gtctgcactc cagcagaca tcatctccaa 120
ggcctttcag gtgaagaaga acttgagttc ttggggattt gtggggctga ttgctcaagt 180
gacaaatact aatcttaggt catgtactga caatctagat tgaattggat ttaatcacta 240

ggcttctgat gtgcgtagt ccggttgat ttggtatatt atgctaaaga aggtaaaaac 300
atggcatagc cgca 314

<210> 18

<211> 644

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (421)

<223> /cultivar="ksh, krr, tgr, mnk, yma, hez, tkh, akk,
ash, ank, mtb, hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "c" "

<400> 18

cgaccccatg aagcttttgc ctctctcacg cttcttgcca cagccaaagt atgatgctag 60
cctaatttat agcttactgt ttccggtgtt aaatttgctt gtagattcgg gttcacgtgc 120
aaacttgaat tgataacacc atgtcatgcc aactgctatc tttctcccaa caagtatttc 180
taaaactcaa ttgaacattg ataattctca agaaagctaa taagtgttac aaatactagc 240
agctctaaga aatatattca aattctaatt tatgcctatt aagcccaaag attccactat 300
tgtagtctgc attgttttga attaattgat gaatctactg caggttctga ctacagaaat 360
agtgcagctt ctctgtccta tatgactata cgaaatgtta caagcaaagc atgaggaatg 420
aatataaaaa actaaacaaa tagtgaaata tctatctaata taacaccaag gagttgcgta 480
actctgtttg cttctctgc aggggcaaaa gtcaaggagg gggcagaggt ggtggccgtg 540
gtggtggaag aggcggtttc cgtggccgtg gtggtggtgg cttccgtgga agaggtgcgc 600
caaggggccg tgggtggacct cctaggggtg gaggtcgtgg attt 644

<210> 19

<211> 549

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)

<223> n= a, t, g, or c

<220>

<221> variation

<222> (172)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (178)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "g" deleted"

<220>

<221> variation

<222> (285)..(286)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "ct" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (298)

<223> /cultivar="hts, mth, yki, krr, tgr, ghm, mnk, yma,
ksh, akk, ank, mtb, hnh, ymt, hit, mmm, don, knh,
or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 19

atntccccct atcggatcgg tcatggagat gctactgcca ccaccgatga actcctctcc 60.
cagtcgcggc gaatcaagcg accccgatga aaaatcgagc tccccggcga cggatcgacc 120
tgccacgatg gcggattgag cggtcacct ctctcaccg gatccagcca gtgtcgtggc 180
catcttcgag ctcgagctgc atgcctccgt gcgacagcgg cggtggatcg gacaagggtg 240
acgcggatct gtcggcctcc accccgatg agcgattttc cactctaccg gattgagtgt 300
atatttggtt ttgtctttta tctgactgga tttctcttct ttttcttctt aattaggatt 360
caattgttct taccataaag atgttttttag gcccgatttg gttaggtttt gggggaattt 420
gggttaaact ctatcggttt tctataggag agacggggat agattcggtc ggtttcttta 480
ggagggacgg acagaggaag tgcggagggc ggaggggatc gtgaacaaag gggacgctcc 540
accaaata 549

<210> 20

<211> 900

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (141)

<223> /cultivar="yki, krr, or ghm"

/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 20

gctagcttgg ccagcagtac gtgagtctga cgatgcatgc atggatgacc ctgctaatta 60
attatacttc ctccatactc atagaaaaag tccttttagaa caatatttaa atcaaacatt 120
taaaatataa atcatgaata actcttaaata tgttgagttt aaaaatgtaa aaattatatg 180
aatagatttg tcttgaaaaa tactttcata aaagtgcaca tatattactt ttcaataaat 240
atttttatag aaaaaagaag tcaaaattgt gttttgtaaa ccgtgtcgct gtccaaaacg 300
acttccttta cgagtatcaa ccaatcgaat tgccctccct ctcaaaagtc aacctcctcc 360
aaattaaagg catgcaagac gccaaaggcg gcagatctgt attcttcccg tggacgggtgt 420
gcgcatgcat gcgtacaaac tttttttttt gttggatttg gtacgagcgt agctgataaa 480
gatagctagc tcatacagctt ccttcacaga atcacaagaa ctagtggcat atgaatccta 540
catacttcta tccaattcga tcgatcattc acctgtgcc tatgcaatag gcaatatctg 600
agctagcgaa cacagtaact ctccccctcc cctcctcac gcgccgatca taaattaata 660
ctccctccgt aatgtatgac gccgttaact ttttaagatg cgtttgatcg ttcattttat 720
ataaaaaaat atataatttt tattatttat ttaaagtatg atttaactat tatatttgta 780
tttgcaaaa aatttgaata agataaatag tcaaacatcg atcaaaaagt caacggcatc 840
atacattaaa aaataaagggt agtattcaat attttgtaaa atattgatcg gacttgtaaa 900

<210> 21

<211> 960

<212> DNA

<213> *Oryza sativa*

<220>

<221> variation

<222> (480)

<223> /cultivar="mth, ghm, hez, or don"

/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 21

aacagtcctt gtatgcactg aacgtactgg tgcggcttgc ttgggcaatc gtcaacggtc 60
aagacgtact aaagagtgga ttaacaaaat gaatgtttta ctaactgtat agtgaacaca 120
agcgggcacc tatagtcgta acgaccgccg ccaaattgcc cagttgcgta cgcgagaatc 180
gatcgatcga gccgatccga tcagctagaa tattcgaacg gaataaagag aacatctcca 240
tgtcctgata cgtgtgtaca cacacgtacg tacgtgtata cgtatacgcg cgtgtgtatg 300
tgtacatatg tatatatata tatatatata catatacata tgtatgtatg tatatatata 360
tatacatatg tatgtatgta tgtatatata tatacatatg tatgtatgta tgtatatata 420
tatatacata tgtatgtgac ggagctcgtg gctcctcacc gggagaccgc gcaggcccct 480
ctttgccggt tcggccgggg gcttaggggtg agatctcaag ctctctctct ctgtgtgtgg 540
aaagatcgtc tgctagcaag aaacgcgaga caccggcgat gtatacaggt tcgggccgct 600
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt ggtggatctg tgtatgaatg agctacaaag 660
tgtgagccca cctctccccc gttctaagct ctgaatctgg caagaatcaa ccaacccttt 720
ctctatgggc aaggctcctcc ttttatactt caaggggata ccacatgcac ctttcccttt 780
ccaaactgga cttttcttct ctttatgaac ggagattggg atggttgccg tccgaatgac 840
acttcgatgg gacagcccac acctacctcc actcccggcg gagacgggcg caacgtggga 900
tcgtggctgc ccgttgctga cgcgaccagt gtcagaccgg tcattcttgt ccaccacgcg 960

<210> 22

<211> 900

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (175)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (197)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (231)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (272)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "t" deleted"

<220>

<221> variation

<222> (285)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (346)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (381)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (384)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,

hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (481)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (500)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (585)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (613)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"

/note=" "g" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (676)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (688)..(689)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "tg" replaced with "tgg" "

<220>

<221> variation

<222> (722)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (749)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (754)

<223> /cultivar="krr, tgr, ghm, mnk, yma, ksh, akk, ymt,
hit, mmm, fom, don, or knh"
/note=" "t" replaced with "c" "

<400> 22

gatgacttct actccctccg tcccctaata taagggattt tgacattttg ctttccttgt 60
ttgaccactc gttttatatt ttttgtaaata ataaaaata aaaagtgttg cttaaagtac 120
tctggataat aaagtaagtc acaataaaaa taaataataa tttcaaaatt ttctgaataa 180
gacgaatggt caaacagtgc aagtaaaatg tcaaaatccc ttatattaag ggacggaggg 240
agtatgtatt acctccaaaa tataagtaact ttaagacgag attagatacc acgaaaatat 300
attcttaact ctatgtatta ggttggttata tttttttaac agagagtagt atcaattcaa 360
agtggattaa ttactctttc cgtcttaaag tataataact tctaagattc aaaatttatc 420
cccaaacaaa caacttttca cctacatttc attctcaatc gactacaatc ttccactcca 480
tatattttat tttctctacc aatcacattc tttttcattt aacttcacac tctctcttaa 540
aacttttata ttttgatacg gaggtagtagt aaaatttctg atcggttgat gtgcagtggc 600
aaaagagctc atgagacatt ccactgcaca gacaatctgg gccttcttac atggactggc 660
acaatttaac atattccaag ctgtgcctgg tggatgtagg gatgcaagta ggtcaaccgc 720
taaatccact tatatgcaaa ataagtagat atttacgggt ttaccttact aatttggttt 780
ataaatgggt ttatgggtcg acccatttgc atctctaggt gcgataagtc aagccacgac 840
atgaaaatgg gttaccactt atttgacgta taagtagatt ggcgggtccg ttttaattgca 900

<210> 23

<211> 960

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (131)

<223> /cultivar="mth, tgr, mnk, tkh, ash, mtb, hnh, hit,
mmm, don, or ssk"
/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 23

aatctgatat ttcttctggt tcaaatagata attgacacaa gtgtgccatt ttgcaaaaac 60
cataccttta atttcatttt atggtacgta tgccaagtaa aacttgtgaa ctacactatt 120
tagttgctta gtcataaaga actcaagtat tctttttttg aggaaaagcc ttagaagagg 180
acagggagag cctgttttca ttaaagaaga agagacttgg cccagttttt gaggggaaac 240
caggcccaaa aacctcagaa ctcaagtatt ctattatatg aaacttaata aactgcgtca 300
aagctgtggt cttcttttct gttgttgac atcgcaagtt taagcctgaa atatgttatt 360
tttccatggt gccattttct caataatgga agctttatta aaactcagtc aaatacaaca 420
agatgataca ttctaattga gccactccc gacctctgca agaaatgcac acagccacaa 480
aacatgacct atctagacct ccattgcctt cttcatgctc ttaatttctg taacatactg 540
ttcacctgtc tggctatctg ggatttttca aggtgtacac ctacggtcac tttgatggaa 600
ggtgaagggg aattacctca actgaacaga ggatgctggt tatacagaac tactaacatc 660
gtaagaacat tctatgattc tgatgcagac atacagtaca gttttaatct aatcaaggag 720
gacgccatat gtgggacacc gcagcgaagt gtaaggagtc ctagaacatc taccttagga 780
gttaagaaga atctatgaga ttgtatgtat aaacatcagg tttctgcaaa tactcttatt 840
taaattccta atgcctgtat tgcaaatata tactttcagt tcgcattaaa gtgtgatagt 900
atgtatgtca ctttgttct caggtagctt ggcaaaatgg caggtcagac ggatcaagct 960

<210> 24

<211> 723

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (236)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (244)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (318)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "t" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (322)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (396)..(397)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "tc" replaced with "ttc" "

<220>

<221> variation

<222> (425)..(426)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "tc" replaced with "tgtc" "

<220>

<221> variation

<222> (510)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "g" repalaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (582)

<223> /cultivar="krr, ghm, ksh, tkh, ymt, hit, mmm, fom,
don, or knh"

/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 24

gagatatatt gcaatatttt gagaattatg tgaaatgatg atttaacgtg cttggatttt 60
tgtaagctct aaaattttta gtaggataa actatataag catataggat attataaaaa 120
gtgaaggaga ggtatattga aatattatgt ggattatgtg ggatgataat ttaattaaca 180
tgcttgcat ttaaagttct aaacttaat aaattagcat gcttgcatga gatttaagat 240
gtattaaatg ttagtggatg atgtggcatc tttgcatgtt gagctttaag atgtagtggg 300
ctttaacttt atagaaatat aggattaatt cctatagaat gtcatgatgc aggatgtcat 360
taataatcct ccaagctggt cccttttaac tttttccct gttacttgaa acttgactaa 420
ggattctctt cgtattaatg tggattgtgt cactgaccat atggttgtat ctttctttca 480
gcgcttcgct gggacttggga atgtttgttg tttttcagt ctttcatggc catggaactc 540
agaatgtctc caacgtgcaa attcttggtt gtgatctaga agatggttat ttgtttgaaa 600
caatggaagc acttgatgtt cccttagcat atacacttgt gagcttgtgt tgatagaatt 660
gtaaagctta catatgtttt agttctacta ttattttgaa gagggaaatg tgcagctgga 720
tgc 723

<210> 25

<211> 799

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (134)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (153)..(154)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "gg" replaced with "at" "

<220>

<221> variation

<222> (181)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (197)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (216)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (248)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (269)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (271)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (310)..(311)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "gc" replaced with "at" "

<220>

<221> variation

<222> (322)..(323)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "cc" replaced with "ctctcc" "

<220>

<221> variation

<222> (402)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (445)..(446)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "gt" replaced with "ggt" "

<220>

<221> variation

<222> (559)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "c" "

<400> 25

aaattcggaa tggctagctg ttgagagtca ttaactccat ccatgtgatg ggtaacacct 60
actctactct acagtataat actagtgtgg tactgatacg gtgattatat gctgtactat 120
cattatacta ctgcggccct gtttggttct atggactaat gtttagctct cacatttta 180
ttttaaatga gccctcaaga atccaaacag gtgggctaata tttgagctaa tgtgaattag 240
ccccctcaa aatattagcc cctccaaggg atgctaata ggttaatttt gtgtggggat 300
catcaaaaag cagctctctc tcctctcttt ctactctctc caacttttag ccttgaatta 360
gcccatggat ccaaataac caccctaggc taatgttttag catattaatt tatgactaaa 420
cattagctct taaaattagc cctgggtaat cttaccaaca gagcctcggt gtgttacttg 480
tgcacgcgat gcacggacag tttcattctc tgtcttcaaa ggcttgaagc cggcaacata 540
tcgttttcat agacagctat tgtaccacaa cggtagtacc ctacttctcc atttctcact 600
cagcttcgtc tttacaaca ccgttgtacc atgcttacca tttgcctctc tatgaaaata 660
aaaacatcat ttcgattttc aaaaatatag ctcaactggt ttcaactcaa ctgtctaatt 720
aggcgatgta catatcaaca tcggaacgtc tataataact tcttaaatct caaaatatat 780
tggttgaatc atcggaggt 799

<210> 26

<211> 709

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (92)

<223> /cultivar="mth, krr, ghm, yma, hez, ksh, tkh, akk,
ank, mtb, ymt, hit, mmm, fom, don, knh, or ssk"
/note=" "g" replaced with "c" "

<400> 26

```
attttcagaa cagtcacat agacatgcc aattactaca agcgaagact ggagaggtta 60
ggattcaaat agttaataat taactttttt tggaatcagt atgctatata tagttaaact 120
ttaggagaaa gaacattggt gatatgaaga cactattgct ctaaatatga acaacacaca 180
caataaatct aagttcgggt tactgaacta tcaggatatg acctatatc aaaactaaca 240
taggaggcca gcacgtggtc atatcccttg atcccgaggt gaaccagttc atatttcaac 300
aagaggggaa gttgttccaa tcctggtttc cagaaaccac actaaacatc tttggaaaga 360
agacactcac cacgtataat agaactgctc acaagttgat ccggagcttc gtatgcaagc 420
tctatggccc tgaaaacgtg aaaaaatcac tcctgccaga actagagaac tccatgaggg 480
aaagcttggc gtcattgata ggaaaaccta gtgtcgaggt gaatgatggc gtgtcaaatg 540
taagttaaca tctgcatttc tacataagta ttcacaattg cacagtgctc ataaaatcat 600
catgatgttt tactatgatt aatttctatt gtgcagatga tcttcggcct agctgccaaa 660
cattgattgg cctcgacatc accattcagg agattgaaaa agacttcag 709
```

<210> 27

<211> 900
<212> DNA
<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (743)

<223> /cultivar="krr"

/note=" "a" replaced with "g" "

<400> 27

cacacatcaa gcacgatcgg aaacgttgta ctgtatctcc cgcataatga ttatggagtt 60
ggcactcgag atcaagatat cagaatagta tatttttctg ttttcaattc ttcctctcca 120
cagagctctt cctagcctcg gcttgtgaga gtaagcgcgc ctcccagcca actaagaatt 180
tgtcggcctt cgcaatgggt ggttgcagggt ctgctgttct caacttttgg attgacaaag 240
gaagacctaa ttaggacatt agcagggatt cctgtttgca ttgcagagtg tgaatcagct 300
gagactcttc ctccgctccc acatagatgc atatcattgt gctcttacta aagttgattt 360
gcagacttgt tgccctagaa aactcgtcta ggcaatgctt tagtggtgtt acataagcaa 420
tcgaagctcg tcaaataatc aatataacat tggcatactg cagagctgta cgaggtctct 480
gagggtacag atggtgtcca gagcagggtt tgctctaaga aggcattgga gcacatctgc 540
cggatgaaca agtaaggtga cataggatca ccttgacgta gccctctctt acaaccgatc 600
cacctgcca ggacttcatt gagaaggata gttgactttg aagtctgcta catgttgatc 660
accaatgga tccaagtatc gggaatcctc ttgccctcat aatatctagc agactttccc 720
atcttatggt ttaggaggaa ttatatggtg tttgacaaat ttctaattaa atcttatgtg 780
catatatttt tcagggaaat atattggttt tggttctaag cacaactaca aatgtgtgaa 840
aagtacaaga agctaaaaca tactgcatat caaaacttgg agtccacggc cataaatata 900

<210> 28

<211> 840

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> variation

<222> (164)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (225)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (254)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"
/note=" "g" replaced with "a" "

<220>

<221> variation

<222> (261)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (268)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (296)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" " t" replaced with "c" "

<220>

<221> variation

<222> (326)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "a" replaced with "g" "

<220>

<221> variation

<222> (552)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,

hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (667)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "c" replaced with "t" "

<220>

<221> variation

<222> (728)

<223> /cultivar="mth, krr, tgr, mnk, yma, hez, ksh, akk,
hnh, hit, mmm, fom, or ssk"

/note=" "g" replaced with "a" "

<400> 28

ttgaataaac catggaaaat tattacacat ataatacatt agcgaccaaa ttgtttcgcc 60
cctaactaga tgatgccccg cgctttgctg cgggatatat gttagatact ggagaaatga 120
acaaatgatt tggattaaaa tattatgaaa atggtttgag aattagtatg tttagttttg 180
gaatgaagta aattgtagat ataattacta tatgcttgca tgttaaactt tgtgtgctta 240
atgggttgat gtggcatgct acatgtaagt tttaggagtg ctaataaata ctatgtttat 300
atgttgagct ttaggtgttt agtggacatt agctttatag aaagaagaga tccctttcct 360
ttttcaggtg attttctgtc cagtccacct cttttcatct ttttttggtg taataactct 420
cgtggacgag aatttagagt atttaccatc caattcgtgt gcctcaactt ttttactc 480
aatccgtatg ccctctataa tactccgtat gacattagga ctgctaacta gtctatttgg 540
taccactttc tcagtttttg atgtatttct catttcttaa ctcaatttgt atttctttta 600
tggcattgtg gacaattttg cccctaggcc cactgtaaga tcaaaggaag attgtcgtag 660
gctctccgga ctttccatta tatttgagag ataaagtga taattcaagt catcaaaca 720

gcataatgaa acatccgacg cctcgagaga gaaatattgg agacattgct ggaccttttag 780
cctgccagtc aacttcagcc taaaatgtgc tcgtcaaacc actcgaaggc ggcgaccaga 840

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 29

gcaattgccca ctggaagaat

20

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 30

taagttgggg aatgcgatgt

20

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 31

tctgctgcct ctgcacatac

20

<210> 32

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 32

aaaaacgaca ccacatcagc a

21

<210> 33

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 33

ggggcgctcc ttcaaaactt

20

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 34

ggtttggcac accacaatgg

20

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 35

tgcaatgtgc cattccatag

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 36

tatgacaagg tgggcctaa

20

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 37

cgccacagaa cggacaaaag

20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 38

gaccaatcct ttgccgaagc

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 39

ccgatggcag cacaaatctt

20

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 40

tcagtttggc ttgggtgtcc

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 41

ccattggttg gtgtggctgt

20

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 42

tggtcgcggc tgataagcta

20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 43

tgcgatggag ggagtattgg

20

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 44

tgcgagcgta caccgctagt

20

<210> 45

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 45

gcttgaggca cgtcaaaatg

20

<210> 46

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 46

ttccgtcgtt catgttggtc

20

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 47

cccacggaaa cagccaaaag

20

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 48

tgctgccatg caaagaatcg

20

<210> 49

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 49

attcgaacgg gggatccagt

20

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 50

agcggatcct gctgatgagg

20

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 51

gtgctgcaaa ggggagtatg

20

<210> 52

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 52

cgccaacctc gtaaataaaa

20

<210> 53

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 53

gaacctgagg accaagtgaag agagt

25

<210> 54

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 54

ctagagagga gagggagaag gagga

25

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 55

ataccacagg tgctgcgtga

20

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 56

tgcgcaacta gggattttcc

20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 57

ccttggtggtc acattgcgg

20

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 58

cggctcttgag gtccagggtg

20

<210> 59

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 59

tggcatcttt gcatgttgag c

21

<210> 60

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 60

gcatccagct gcacatttcc

20

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 61

gaatcggttg caggagaggg

20

<210> 62

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 62

gcggctatgc catgttttta cc

22

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 63

cgaccccatg aagcttttgc

20

<210> 64

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 64

aaatccacga cctccacccc t

21

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 65

ctccctccgc tcccagaaat

20

<210> 66

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 66

attttggtgg agcgtcccct

20

<210> 67

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 67

gcatggatga ccctgctaata

20

<210> 68

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 68

tgatgccgtt gactttttga

20

<210> 69

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 69

cttgcttggg caatcgtaa

20

<210> 70

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 70

gttgctgacg cgaccagtgt

20

<210> 71

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 71

gctttccttg ttgaccact cg

22

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 72

caagccacga catgaaaatg g

21

<210> 73

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 73

acacaagtgt gccattttgc

20

<210> 74

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 74

tgttctcagg tagcttggca

20

<210> 75

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 75

cgtgcttgga tttttgtaag c

21

<210> 76

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 76

gcatccagct gcacatttcc

20

<210> 77

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 77

aaattcggaa tggctagctg

20

<210> 78

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 78

acctccgatg attcaaccaa

20

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 79

caagcgaaga ctggagaggt t

21

<210> 80

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 80

acgtgctggc ctcctatgtt

20

<210> 81

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 81

atcaagcacg atcggaacg

20

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 82

aacttggagt ccacggccat

20

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 83

gaccaaattg tttcgcccct a

21

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 84

gccttcgagt ggtttgacga

20

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 85

aggtcgacac ttcggccgtt

20

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 86

gaacagctgt aataagactg a

21

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 87

gatgcctgca aagtcccgac

20

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 88

cgcaaaccat caacttaca

20

<210> 89

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 89

cgattggcag ataaagttgg at

22

<210> 90

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 90

tggctagaag tagatgctgc

20

<210> 91

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 91

aaacaggtga gggaaagatg

20

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 92

gactgaaaag ttgtgtgtgt

20

<210> 93

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 93

catgaaatta ttacagaact acaga

25

<210> 94

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 94

agcacctccc cctcctctaa

20

<210> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 95

ggaactagcc cgtgacgctc

20

<210> 96

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 96

gagagtcgag atgatccaaa

20

<210> 97

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 97

cagctatagc ctagcttgga

20

<210> 98

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 98

gaagacagct tctgcttggt tgt

23

<210> 99

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 99

aacgtcatgg acgatccgct

20

<210> 100

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 100

gccatgaaag cactgaaaaa

20

<210> 101

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 101

ttgagttcctt ggggatttgt

20

<210> 102

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 102

tggtacaagc aaagcatgag gaatg

25

<210> 103

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 103

agctcgagct cgaagatggc

20

<210> 104

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 104

caaacattta aaatataaat catgaata

28

<210> 105

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 105

taagcccccg gccgaaccgg caaag

25

<210> 106

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 106

gactacaatc ttccactcca

20

<210> 107

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 107

tgtgaactac actatttagt tgctta

26

<210> 108

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 108

ctgggacttg gaatgtttgt t

21

<210> 109

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 109

gctaattgtga attagcccc ct

22

<210> 110

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 110

agtttaacta tatatagcat actgattc

28

<210> 111

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 111

catcttatgg tttaggagga att

23

<210> 112

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 112

gtctatttgg taccactttc t

21

<210> 113

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 113

accgggtagg gaaacaaaac

20

<210> 114

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 114

aataatactt cggcgcacgcg

20

【図面の簡単な説明】

【図 1】 配列番号：1 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 2】 配列番号：2 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 3】 配列番号：3 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

示す図である。

【図 4】 配列番号：4 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 5】 配列番号：5 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 6】 配列番号：6 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 7】 配列番号：7 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 8】 配列番号：8 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 9】 配列番号：9 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 10】 配列番号：10 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 11】 配列番号：11 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 12】 配列番号：12 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 13】 配列番号：13 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見

出された多型部位を示す図である。

【図 14】 配列番号: 14 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 15】 配列番号: 15 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 16】 配列番号: 16 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 17】 配列番号: 17 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 18】 配列番号: 18 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 19】 配列番号: 19 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位を示す図である。

【図 20】 配列番号: 20 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 21】 配列番号: 21 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 22】 配列番号: 22 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含む DNA 領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 23】 図 22 の続きの図である。

【図 24】 配列番号: 23 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見

出された多型部位、および該部位を含むDNA領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 25】 配列番号：24 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含むDNA領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 26】 配列番号：25 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含むDNA領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 27】 配列番号：26 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位を示す図である。

【図 28】 配列番号：27 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含むDNA領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 29】 配列番号：28 で示す塩基配列における、イネ 24 品種間に見出された多型部位、および該部位を含むDNA領域を増幅するためのプライマー配列を示す図である。

【図 30】 精米から抽出したDNAを鋳型としたPCRの結果を示す写真である。精米サンプルは、平成12年産の茨城県産あきたこまちと表示のある市販の米である。使用したPCRプライマーは、PGC1001 (U:5'- accgggtagggaaacaaaac -3' / 配列番号：113、L:5'- aataatacttcggcgcatcg -3' / 配列番号：114) である。以下の方法で抽出したDNAを鋳型としてPCR反応を行い、反応液を1.5%アガロースゲル電気泳動により分離した。

M：分子量マーカー (φX/HaeIII)

1：方法1 (CTAB法)

2：方法2 (アルカリ+CTAB法)

3：方法3 (簡易抽出法)

4：方法4 (簡易抽出法+フェノール・クロロホルム処理)

5：方法5 (アルカリ+簡易抽出法)

6：方法6 (アルカリ+簡易抽出法+フェノール・クロロホルム処理)

7：対照（ハバタキ緑葉よりCTAB法で抽出したDNA、40ng）

8：対照（ササニシキ緑葉よりCTAB法で抽出したDNA、40ng）

【書類名】 図面

【図1】

配列番号1 S0015

1 tattcttcac gtgattcagc gaagataaca ctctttaaac act[p:gcaattg ccaactggaag
61 aat]tagcacg aatttgagat gttttttcac cggaagataa gttcataact aaggtgtttc
121 ttcgtttcaa caaacaagat ataaagtcca accagatttt acatttttga aaacctttta
181 tctttacata tatcagtggg ggagttgaaa tgggagatac atcaactcta aattagagaa
241 attttttagga tacaactaaa caagtttaac caaatttccc ttgtcctaaa cagcaaatga
301 ttcagtga[10c]a cattgggttg atttagcgac ttcaaacta ttgtcttctt tttcattttt
361 caaatttcta gctctacaac taattcaatg actactcagt ttaaaacaaa acaaatggaa
421 gattgggttg gagattt[17a]ag aagaaacttg ccaggtgggtg gcttgggtccg tggaggaaag
481 agggctcagg ggctaaccac ctgcgaactt agggctctgg cctcgtctc ccgccttttc
541 gccgagagcc cgcaaggtga cagagtgcgg cgaggtcgac acttcggccg tt[29c]ggggtcg
601 ccgcgtcggg cgtccgggcg gcgtcgtggt tcgggggact gagggcagct actcagctag
661 accgctggag cccaaaggaa tctaaggta catgctgtct tgttgagcct attttatggg
721 cctgcgactt tgcagttagc cgaggcatat tggaataaat ttaatttagg tctctcaatt
781 tgtcgtcgag cctgaaattc atcactggac cgcaaaacta gat[q:acatcgc attccccaac
841 tta]gttaagg tagcagtggg ggtgggcagc cagcgaggag ggccgtgggtg gtccgtgatg

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

10ksh:t、10krr:t、10tgr:t、10mnk:t、10yma:t、10tkh:t、10akk:t、10mtb:t、
10hit:t、10mmm:t、10fom:t、10don:t、10ssk:t、17ksh:g、17krr:g、17tgr:g、
17mnk:g、17yma:g、17tkh:g、17akk:g、17mtb:g、17hit:g、17mmm:g、17fom:g、
17don:g、17ssk:g、29ksh:t、29krr:t、29tgr:t、29mnk:t、29yma:t、29tkh:t、
29akk:t、29mtb:t、29hit:t、29mmm:t、29fom:t、29don:t、29ssk:t

【図2】

配列番号 2 S0040

1 ttttaacttta ttgttagtat tagtactage tctggttgte tatcac[p:tctg ctgcctctgc
61 acatac]tgat ctagaacaca catgttctct acttctctgc agtcactgct actgacatgt
121 gggccctact ctctttgggc cagcatgtca gtgtcagcag aggatctcat tcctacagtc
181 aatccatgtg tgctactccg ttaaaaaaac gaattccaag ctacaaacct aaacacgttt
241 ttttggacgg aggggtatat ataaacaaag aaaaagcact gtaggtacat aatatagtac
301 tag[7a]tcagtc ttattacagc tgttcaaaaa cagttcagta tatagtgaat ctagttggtc
361 tgttgctact gcagttaatt ggctctgggt gcttttggtg atctgttgct actgcagita
421 attagctccg gttgcttagt tgatcaagtt aattagctct ggctgtgccc taatcaa-aat
481 tcatatatag tagcttcaag cagacatac cacctttcct accttctggt ggatactcct
541 ctcttttata atttctgcag taagcttgaa acataagtag acaactgccat taattaaaca
601 agcacagtga attaaccag atatgtgtaa tctgcatact aattaaatta ggttcgtgcc
661 agttcaaggc agccacaacc acatacaggc gatccatata ttgatttata tatctgatcc
721 gtttgttgag gttggtgcat caatcccccc tgaagcagct atgtcgagcc taattgcgat
781 ttgattaatc aatttttctc atccaacgat ttaattatgc gtgattttaa tgattcgatc
841 ggtacagttt tttttctctt tcttcagtgc tagtgcttct actagtattc gtgacaataa
901 cctgtcggat ttggaatata tgat[q:tgctga tgtggtgtcg tttt]attaa caagcccttg

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

7yki:t、7krr:t、7tgr:t、7ghm:t、7mnk:t、7yma:t、7hez:t、7ksh:t、7akk:t、
7hnh:t、7hit:t、7mmm:t、7fom:t、7ssk:t

【図 3】

配列番号 3 S0279

1 tagcattagg ataaaa[p:gggg cgctccttca aaactt]taaa atatcaaaga acaccctttt
 61 gagattgaat tgcttcttct ggtctttgcc tcttctttcg cttttcagca ccagaatcgt
 121 acttcttatt tctagctgac ataattgagga ttgaggaaat aagtgtcttc ctatttcata
 181 aacaaaagaa aagtaatttg [1a]gtcaaacag tcacatcaact atttaagttt tgattcaatc
 241 gatagtttga ttcattattac atctactatt tgatacgaga ctcaatgtct caactcttaa
 301 gtctaaaagt aactttccaa tgctgcacaa aggtagtagt cagggacacg aagat[3a]agtg
 361 gatgagagggc actgacaaag gtagccggcc aaccgcttgg cattgatggc gcttgcccgt
 421 tggtcgctcg ctgcctcgtg ttgggctgg[5g] gtcgggactt tgcaggcatc gtcatttcat
 481 cgtcgaattt gaaatcgaga ttgactccag tca[7c][8a]cgaca tgactacaca
 acagtgtgac
 541 ttgatctcgt t[9c]gcctctca gcctccaatg cacctgatgg cagatgggcc tctctaactc
 601 attcacaggt agaagcagga ttgtggctcg gctatgcatt aatgtgcgcc tctccgatta
 661 acttgggtgc ccaaaaaaaaa ttgggggaca ctct[11a]tcac gccaatgtcg cacacaacct
 721 tcgacaggct tgcccattag tgtgacactc ctgcccacat cactgtcca ttgtcatcca
 781 tcaccttgtc ga[q:ccattgtg gtgtgccaaa cc]gaggctgt cgtctgtttg tgattttgta

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1ksh:t, 1hts:t, 1mth:t, 1yki:t, 1krr:t, 1tgr:t, 1ghm:t, 1mnk:t, 1yma:t,
 1hez:t, 1akk:t, 1ash:t, 1ank:t, 1mtb:t, 1hnh:t, 1ymt:t, 1hit:t, 1mmm:t,
 1fom:t, 1don:t, 1knh:t, 1ssk:t, 3ksh:g, 3hts:g, 3mth:g, 3yki:g, 3krr:g,
 3tgr:g, 3ghm:g, 3mnk:g, 3yma:g, 3hez:g, 3akk:g, 3ash:g, 3ank:g, 3mtb:g,
 3hnh:g, 3ymt:g, 3hit:g, 3mmm:g, 3fom:g, 3don:g, 3knh:g, 3ssk:g, 5ksh:a,
 5hts:a, 5mth:a, 5yki:a, 5krr:a, 5tgr:a, 5ghm:a, 5mnk:a, 5yma:a, 5hez:a,
 5akk:a, 5ash:a, 5ank:a, 5mtb:a, 5hnh:a, 5ymt:a, 5hit:a, 5mmm:a, 5fom:a,
 5don:a, 5knh:a, 5ssk:a, 7ksh:t, 7hts:t, 7mth:t, 7yki:t, 7krr:t, 7tgr:t,
 7ghm:t, 7mnk:t, 7yma:t, 7hez:t, 7akk:t, 7ash:t, 7ank:t, 7mtb:t, 7hnh:t,
 7ymt:t, 7hit:t, 7mmm:t, 7fom:t, 7don:t, 7knh:t, 7ssk:t, 8ksh:g, 8hts:g,
 8mth:g, 8yki:g, 8krr:g, 8tgr:g, 8ghm:g, 8mnk:g, 8yma:g, 8hez:g, 8akk:g,
 8ash:g, 8ank:g, 8mtb:g, 8hnh:g, 8ymt:g, 8hit:g, 8mmm:g, 8fom:g, 8don:g,
 8knh:g, 8ssk:g, 9ksh:t, 9hts:t, 9mth:t, 9yki:t, 9krr:t, 9tgr:t, 9ghm:t,
 9mnk:t, 9yma:t, 9hez:t, 9akk:t, 9ash:t, 9ank:t, 9mtb:t, 9hnh:t, 9ymt:t,
 9hit:t, 9mmm:t, 9fom:t, 9don:t, 9knh:t, 9ssk:t, 11ksh:g, 11hts:g, 11mth:g,
 11yki:g, 11krr:g, 11tgr:g, 11ghm:g, 11mnk:g, 11yma:g, 11hez:g, 11akk:g,
 11ash:g, 11ank:g, 11mtb:g, 11hnh:g, 11ymt:g, 11hit:g, 11mmm:g, 11fom:g,
 11don:g, 11knh:g, 11ssk:g

【図 4】

配列番号 4 S0044

1 tccaaaatcc aca[p:tgcaatg tgccattcca tag]gaatttc atgggatttg aaaatcgta
61 atcctttgaa tcaaatggcc aaataggaaa atttcgtata ggatttgaat cctatgaaaa
121 tcctatataa atcctttgat tcaaagggcc ctaagtttcg tacgtgtgca actgtgcatc
181 cagcacgtac tactacgtac tcctatgtac ttgtagtggg gtagcctata catatgcatg
241 aagcgttcca ggaaaaatag gagtctcagt aatttgtgca ggcatgcggc ccatggagta
301 atagaccatg ctgaataatt tcagttcaaa tttcatactc caactgtaat accatacgca
361 aaccatcaac ttacaa[4t]act gatatacttg acatttcaaa ataacatagc ctttggtttt
421 agctgacgta gcgactgagt aagctagcac gaggtcata tgggtccac atgtcagcgg
481 cccaatcttc ttccacatct ctctctctt cccaatccta atctctctcc atgcctctag
541 ggtggtgggg gtgggaagaa gctcgacagc ggtggccaac acatacgcaa ggagaagctc
601 gaggactgca agacgacttt cttttcgctt accactggaa ggcaacacct tgtttccctg
661 ctttctagtt gagcgaggac actgaatgca tggaggtgtt gtgacccaaa tctacggcag
721 aatccctcgc cggaagtctg ccggagatct agcagagaag aggcgagaag aacagggtag
781 aaaggggaaa cagaggaag cagctgggga ggaggatatt tttcatttct ttcattgaatt
841 gttttctcaa tacagctgga gtatatatac tcacgcactc caccctctt gcc[q:ttaggg
901 cccaccttgt cata]gacact tctatctata aagagtagaa gatgtattca cttctgaaaa

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

4ksh:c、4ymt:c、4don:c、4knh:c

【図5】

配列番号5 S0252

1 tgctgcatgt ttcagtccaa gctagg[p:cgcc acagaacgga caaaag]taag aaaatcgcta
61 cgtacaactc acgtctgacc agcacttagc tgctaattgc cctagccaca tggagagaag
121 ttggtctgcg tgaagcgtaa cgattggcag ataaagtgg at[2t]ggatggg aatcggaaga
181 gggagtcgaa cgtatagcaa cactccagaa gttaaagcagt aaaccgaaaa agttttgcta
241 tcacttgatg gaccgtctcc acaagtggcg actggcacga catggccact cgacagaacc
301 gcacaacaaa tgctgaccc tttgcccctat tccatgcgaa gttgcgactt gcgagtcttt
361 gggcagggca tgcaactactg acaagatgaa agaagaaaat caaccgtaat tcgggcgtgc
421 actgctgcag aatagtcctt gtgatcatgt ccatgtgacc atgttcgtta cgttctgagg
481 cgctgatagc gagcgatgct ggtaatcgtg accaatctcg ttcacgtcca ccttggtgac
541 ggcacgtac gtcgtatat atgacaacgt cctgctacat atagccttgc tcactttcgg
601 actttgacgt atgtgaagag agcacgacta ggagccacta atcatatggt ttggtacatg
661 agaggatatg catgtttcac tttgcaccca acatgtactg tactcatcta gtcactctac
721 tagtattttc catcggtgct cttttctcct gtgatctctc gctttgcaca caaacctcgc
781 aacaaaacgg tctcgtgct gcctttcagc [q:gcttcggcaa aggattgggc] gggtcatgag

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmh/fom/don/knh/ssk

2hts:c、2mth:c、2yki:c、2krr:c、2yma:c、2hez:c、2ank:c、2mmh:c、2fom:c、
2don:c

【図6】

配列番号 6 S0109

1 aattattatt attattattt ccaatcagcc atatatatgg cttgccaa[p:cc gatggcagca
 61 caaatctt]tc ggcgtcggtt gaaccattc ttcaaacttg aagttggatt tggacgtaat
 121 agaaggtgca gttgttcaact tgttcctggc atcaacgtgt acggttgaac aaatcggtgg
 181 atctcttatg gttaacgtgc cctgttgatg tctgaaaacc catctgttct ttgttctaac
 241 tcctatctta tcctctcatt ttttttcgct tgggtctcaac ttcgtgttct actagtttg
 301 aacgagtcac tcaactcggac tcgagagctc tgaacttctg aacaagccaa aatgctgtct
 361 gaaccgagat cttcttggcg ctgtcagcct gtcacaaact cgcaatccaa ttgcacttcc
 421 agcggttgag caggttcaat tcaacatgac tttcatcagg agatggtaag ttaggaacag
 481 attactgtca caactcacia cagttattac tact[la]tcgca acaaagtcta gctgtcctta
 541 tcctcatcga ctggatactt cagaaacaag cataacagta gcattggagc aaaggacaca
 601 gcatggctag aagtagatgc tgc[2tgc]ctag agatatcatc tcgaattcat ggcattgaaca
 661 aacgtcgttc atgcagccat gcaggaataa taagctcaga acaggattca ggacaaattc
 721 aagctatcta caagcttgcc agcatcatca tattataata attgctttaa tagtcagcaa
 781 actcgtacag aatagccaga tccaaatttc cacaaactat atatcatcat caggaatttt
 841 aaaaagagaa ctcggaatcg atttcgcatg atattcga[q:gg acaccaagc caaactga]cg

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1mth:g、1krr:g、1tgr:g、1ghm:g、1mnk:g、1yma:g、1ksh:g、1akk:g、1ank:g、
 1hnh:g、1ymt:g、1hit:g、1mmm:g、1fom:g、1don:g、1knh:g、2mth:-、2krr:-、
 2tgr:-、2ghm:-、2mnk:-、2yma:-、2ksh:-、2akk:-、2ank:-、2hnh:-、2ymt:-、
 2hit:-、2mmm:-、2fom:-、2don:-、2knh:-

【図 7】

配列番号 7 S0115

1 taaccacttg cttcagttgc tgcattgctta gtacatcagt actgtcatg[p:c cattgggttg
 61 tgtggctgt]g agtgaacatt gtgcagcaga gaagcaagca acaatagcat tggaccccca
 121 agaaccagta cattatctct atctgtgaca gagaacacaa gaatgcaaat gctgataaag
 181 aatcaagaaa gcattgtgca agcagcaagg tgagtagaga gtgatggaag cagagagaag
 241 ctgcag[la]cta gtgatgaaaa tgattgggtga gtacagtga acaactaaca acaagtctct
 301 atgaagaagc aggtactaag catgcatgtg tgtgtgtgtg t[2-]gatggcatg tggatatcaat
 361 gcttctgggg ttgttcactt gtccaccaga gcaaccagga caagtcttct cactctacca
 421 ttccgggtgc attttctctc tcaaccctc ctcttgttgc ttagcaagc ctgcagctta
 481 aactagatta tgttttcttt cctcaataaa gattaatagt attgttaatc atg[3a]catctt
 541 tccctcacct gtttctctct caagagagag gaggaggtgc acaggcacag acagctcaca
 601 caaacattgt gttgttcatg tctctttctt gcctacctt gttgaactgg tttgccttgg
 661 gagacacaca ggacactcga ggctgcctgg ctggcctctt tgtcaggag aaacctgcta
 721 atctgctata atagtgttgc ttataattct atgattctat ccatcacaaa ggacacagta
 781 tagctgcac ctttaactgc agcttgcagg ctttttcat cgtttacttg t[q:tagcttata
 841 agccgcgacc a]aaattttta gtactaaaac tcaatattag agttgatgtt agggtttttt

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mm/fom/don/knh/ssk

1hts:c、1mth:c、1yki:c、1krr:c、1mnk:c、1hez:c、1ksh:c、1akk:c、1ank:c、
 1hnh:c、1ymt:c、1hit:c、1mm:c、1fom:c、1knh:c、2hts:gt、2mth:gt、2yki:gt、
 2krr:gt、2mnk:gt、2hez:gt、2ksh:gt、2akk:gt、2ank:gt、2hnh:gt、2ymt:gt、
 2hit:gt、2mm:gt、2fom:gt、2knh:gt、3hts:c、3mth:c、3yki:c、3krr:c、3mnk:c、
 3hez:c、3ksh:c、3akk:c、3ank:c、3hnh:c、3ymt:c、3hit:c、3mm:c、3fom:c、
 3knh:c

【図 8】

配列番号 8 S0107

1 tgtatagtgt caaatttact cataggttgt ttgtttt[p: tgc gatggaggga gtattgg]ttt
 61 gactggatgg gtcattgaaa actgaaaag caacagcggg atgcatggca aaagaggac
 121 aaaagaacaa gacgaaacat aggtaggatt gcaggatgct caagtggaa cttgtagtgt
 181 tagatgaagt gaagtggaaa gccgaagtcc cgtgaacgaa gcaacaaaaa attgtgggag
 241 ttttcc[1a]ttt gttgtatg[2t]g tattatttgc gatttgaaat ccaggctgtg
 tttagttcct
 301 tccaaa[3g]tta gaagtttggg ttgaaattga taccatgtga ctgaaaagtt
 gtgtgtgt[4-]at
 361 gacaggttga tgtgatggaa aaagtttgaa gtttg[5a]attc aaagtttga tctaaacaca
 421 gcccgaatgt ttaaagagaa ctt[8t]aacgat taaatttggc cagcaccggg aagccgataa
 481 acaaaagatg agaataaagt actgtatata caacttccag cctcatcttt tcaattatgc
 541 ttatgtttat caactaaaat ttaaattttt aaccttaaat ttagagtga ttttagggtt
 601 ttttttatcg aagtttatgt ttttagccttt acttttagat cgtaggaaca cgtatatgaa
 661 aaaattatgt ttcatttgca attataccgt ttgtcttatt ccctatataa gcgaaacgag
 721 ggaccttccc tgtcttgctt gtgatcatca gtcattcat ct[13a]tccgtg gatgtgaagt
 781 tacgacagaa atgatccatc gttcaacttg aattacactt gtact[q: actag cgggtgacgc
 841 tcgca]tgtca gcgtaacgaa acgatgacat cgccatcaca gtaggagtat tggactaat

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1mth:t, 1yki:t, 1krr:t, 1tgr:t, 1ghm:t, 1mnk:t, 1yma:t, 1hez:t, 1ksh:t,
 1tkh:t, 1akk:t, 1ash:t, 1ank:t, 1mtb:t, 1hnh:t, 1ymt:t, 1hit:t, 1mmm:t,
 1fom:t, 1don:t, 1knh:t, 1ssk:t, 2mth:c, 2yki:c, 2krr:c, 2tgr:c, 2ghm:c,
 2mnk:c, 2yma:c, 2hez:c, 2ksh:c, 2tkh:c, 2akk:c, 2ash:c, 2ank:c, 2mtb:c,
 2hnh:c, 2ymt:c, 2hit:c, 2mmm:c, 2fom:c, 2don:c, 2knh:c, 2ssk:c, 3mth:a,
 3yki:a, 3krr:a, 3tgr:a, 3ghm:a, 3mnk:a, 3yma:a, 3hez:a, 3ksh:a, 3tkh:a,
 3akk:a, 3ash:a, 3ank:a, 3mtb:a, 3hnh:a, 3ymt:a, 3hit:a, 3mmm:a, 3fom:a,
 3don:a, 3knh:a, 3ssk:a, 4mth:gt, 4yki:gt, 4krr:gt, 4tgr:gt, 4ghm:gt, 4mnk:gt,
 4yma:gt, 4hez:gt, 4ksh:gt, 4tkh:gt, 4akk:gt, 4ash:gt, 4ank:gt, 4mtb:gt,
 4hnh:gt, 4ymt:gt, 4hit:gt, 4mmm:gt, 4fom:gt, 4don:gt, 4knh:gt, 4ssk:gt,
 5mth:g, 5yki:g, 5krr:g, 5tgr:g, 5ghm:g, 5mnk:g, 5yma:g, 5hez:g, 5ksh:g,
 5tkh:g, 5akk:g, 5ash:g, 5ank:g, 5mtb:g, 5hnh:g, 5ymt:g, 5hit:g, 5mmm:g,
 5fom:g, 5don:g, 5knh:g, 5ssk:g, 8mth:c, 8yki:c, 8krr:c, 8tgr:c, 8ghm:c,
 8mnk:c, 8yma:c, 8hez:c, 8ksh:c, 8tkh:c, 8akk:c, 8ash:c, 8ank:c, 8mtb:c,
 8hnh:c, 8ymt:c, 8hit:c, 8mmm:c, 8fom:c, 8don:c, 8knh:c, 8ssk:c

【図9】

配列番号9 S0126

1 attacaaaaa ttatatgaac atgcttaaac aatttacaag aataattctg gttgatg[p:gct
61 tgaggcacgt caaaatg]ttt cataaagtgt gaagtgagt taactcaact ggttatgttt
121 ttttatggaa tcagtctacc taagttgaag tcctagactt acgccgatgc ttgtatttat
181 tgtaattttt tttttcgtgc tagacgccta tcatgacttc gttaatctca agatattgctc
241 gcacagtctt tcggagggtgc tcatatgagt aagatgtgcg tgtgtacgtt catatgagtg
301 agtatacgtg tgctacgaga gtctgcgtat acagtgtgct tctacaaaaa aatgtttcag
361 agtaaatttc acaaaaactgc aggtactttg atcaaattat tataaaaacta cagatttaat
421 gtgatgtatt acaaaaactac atatttaacc atgaaattat tacagaacta caga[19t]ttaag
481 attaagtatc acaaaaactac aaatttaata ataaaattat cacaaagata taggttttgg
541 ggtttaaatt cttagcacta atatgttatg attgagttat aaatatctaa gttttgtaat
601 taaattgatg ctaaacatat agttccacga taattttggt actaaatctg tagttttata
661 atattctacc ttaaattctat aattttatga gaaattcagt gttaaatctg tagttttgta
721 atatattatc ttaaattatat agttttgtga aatttaatca atgtttcaca ggagacgtgg
781 catatatgta tactccacag agcgtgtaat taaacgtaat taaaatat[q:ga ccaacatgaa
841 cgacggaa]ga ctacgtgtga accagccagc taattggccc tggaatccgt gatgaccaag

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

19yki:g、19yma:g、19ssk:g

【図 10】

配列番号 10 S0124

1 aaaagt[p:ccca cggaacagc caaaag]ttta ttaaaccctta ccattgaatg cagcattggt
61 gacettgctg cccttgaaag cttagttagt tcattgggtat caaaaggaga aatttcatcc
121 aacacgggtgc actcttggtt cccttcaaag ttgctcata gcaaccttcc aaatgctatt
181 ttttacagtt tagttacagt aatgctaa[lg]t actcccccca ttccaaaata tagggcacia
241 cgattttttc ccctaagtgt gcataatacg aggttcgcat gcatgcgtgc atgctattga
301 ctagcacctc cccctcctct aa[2g]ttctatt tttaaagcct ctacctcaa gatctctgat
361 ctctaatecc attgggtgca tgcattttat ttattgggat gatccaaatt agaagggtgat
421 aataattttt tcttggtttt tgcgtaagag atagttgctc attatatatt ggaatgtagg
481 ggagtactca tttattctag cacaccaatc tcctgtgcac caaaagtgat tctgcacata
541 gattgagaat gcaaggtagt actaacttgc aattaagtga gtgcattaat tgctgaatat
601 gcataaatta agaacttaag atgcatgcaa agaattttgc tcccagtttc tccactttct
661 gatgtgaact tcccttatct agatcctaca gtgggaactt ttttctgttc atcttgaagt
721 atcttttggt agctgctcat caaaataatt tatattg[6c]ct ataacataac ttataccatt
781 ttgtcgaatg ttatttatct aacttcagt acacctatta tcttttggtg gggaagttca
841 cacttgtaa atcccattgt cttttgcaga taacagccct gtgggattat ttttgcttc
901 acatcaatgg tgtgaaacca gtgcaaagcc gtggagcttt at[q:cgattctt tgcattggcag
961 ca]aagtcac tcccagcatt ttgggtactc atttgcaaga tattattgat attgggtttg

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1krr:t, 2krr:a, 6krr:t

【図 11】

配列番号 11 S0146

```
1 cttaatccct taatcttcat gtttagaag[p:a ttcgaacggg ggatccagt]c ttcaacttgg
61 cacgcacacg tctcaatctg cctctccatt aatagccaaa caagctgtgt ggcttttctc
121 ttgcaacttg cagctgtgct gatgttgctg cattctgggtg aactaggcta aaaggcattt
181 tgtgggtcagg cctgttttag ttttacgggtg aaaagttttg gcgtgtcaca tcggatatac
241 ggacacacat ttaaataatta aatatagtct aataacaaaa taaattacat attccgtctg
301 taaattgcga gacgaattta ttaagcctaa ttaatacttt tatcaaatca tggcgcaatt
361 aggcttaaaa gattcgtctt acaatttaca cgcaatctgt gtaattagtt tttttattta
421 tatttaatac taaatacatg tgtccaaata ttcgatgtga catgatgaaa agtttttgcg
481 tgaaaactaa acaggacctc atccacattg ccatggatac atatcattca tgccatggct
541 agctacctct tgataatagt agaattgtca cgccccgaac tagtcccgac cggaactagc
601 ccgtgacgct c[5ca]atttaac ctgttaatcg ataccagtcc caggaaatag tgctgggtatg
661 acagggagac agaatacac agcaacagag gtctctttat tatagagtag aggtacagtc
721 atgttgggct gcggacagat cccgagctca caactgcatt acagaaggga aacggaagcc
781 aggacttgga ccaaacaaca caggcgcgac ttgggaacta ggccgaaacc ctaaaactca
841 tcatagccgg cttgctcctg gaagaact[q:cc tcatcagcag gatccgct]tc atcttcttca
```

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

5krr:ag、5tgr:ag、5yma:ag、5ksh:ag、5tkh:ag、5akk:ag、5ash:ag、5mtb:ag、
5ymt:ag、5don:ag、5knh:ag

【図 12】

配列番号 12 S0135

1 acggaatg atgtaatctt ggaccactct ctgtgacctg tgttatgact tatgact[p:gtg
61 ctgcaaaggg gagtatg]aat tattgttctc aaaactagag atcactcatg ctccaggaag
121 ccttgaattt gtcttgattt atactgaaag taacctggat tcataaaatt cttgtgttcg
181 aagcgaatgg ttgaggaata ttatcgtttc attgagagag agatttcac tcagctagaa
241 aagttaatac ataaaaaaat gttgctagat acctcattga agacagtta acaccaatgg
301 aaaaaaatg ttgcaacata tacctcattt tatttcaaca ttgcagtatt aaaagaaatc
361 ttttatatat gtcctttta aaaaagcatc aagatgtaca agtttttagg ggtttaactt
421 ggtaggaag aggatgtgca tcattgtcag gaagacaacg gtgtgaaacc tgtcatgaat
481 ggtagcctcc cgagacttga gctagaggac ctagtaacac cgaggcatca actagccagg
541 gatgcaagta ggcaatcaat cgaccatctc tatgagagca cgcgtgctaa ttagtttaa
601 cgagtttcag atactaccta tgcctaaaa taagttaatt tttcatccat cacacatata
661 ccaatacaaa catcaaaaga ttagaatacc agtcactaga tgaatagaag tcgggggtact
721 caaatcggt catatgcttg acaagagagt cgagatgac caaa[8g]taaaa caatacaag
781 attattcgat tcagattgaa aacattggtt aaaagatagt tcaaagcaaa acatcggtta
841 taaaagatga tttaaagtga aatttgctca ttattatgat aatagctcg[q:t ttgatttacg
901 aggttggcg]a ctaattaagg cttatttagt tcccaaaata aaaaatttca cgcagtcata

nbb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

8ghm:t、8ksh:t、8ymt:t、8hit:t、8mmm:t、8fom:t、8don:t、8knh:t

【図 13】

配列番号 13 S0155

1 gaagcatctt aattccagac aagtcaaatt tcatagcaag ggacgatgtt atgattattt
61 attgaattgt acagtactat tcaacctgac aaacattgtg caatcacatg gaaatggagc
121 gttcatittat caaatttgca cgaattcggc gatctcaacc tcaagaggag caactaccgt
181 attcaccctc aatgttaatt tctccccgaa catattatcc tactaccgta ttcatcctca
241 atgttaattt ctccccgaac atattatcct ttcggtgcttg atctaatttt aggcatagct
301 caaaattagt gcaactaatc tacaaactgt gaatggacaa aaatatacag cticagcttc
361 tcaaaaccac ttcccccatc cgaacctgaa caaaacccaa ctctgatggc acagtaaata
421 actaactagg gcaagaacca tcgcgcgaca cgggcgcggg ctagatcgat cgatcggtcg
481 atcaagcccc tcccccaaga gggaaacacg accagcgaca gcgatccatc caacgccgtc
541 gcatcattca cagctatagc ctagcttgga [2g]gaatcaaac catggatttt ggccttgacg
601 ttgtcgatgt gtcgtgctc tccacctcga gaaacntggc cccgtcaggt cttaaatacg
661 ggtgtctt

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

2mth:t、2krr:t、2tgr:t、2ghm:t、2mnk:t、2yma:t、2tkh:t、2akk:t、2mtb:t、
2hnh:t、2don:t

【図 14】

配列番号 14 S0161

1 ttataccaca ggtgctgaca ttaatatgct tttacttcag tttgtgtttt gttctctgtt
 61 taatcctgca tatgcctgtt aaatttatta caaagactat attaaactag ttttacctgg
 121 cgaaaatatt aaactagctt tgatagttct tgttgcaaca acagaaccgt atttgtttta
 181 tttcaaatat tatgttccat tagcggaag agcttggttg tttgttacc tctttttttt
 241 ggcaaatgaa gaatgctata tacaagctag attgcaatcg tatatcagga aattgactga
 301 tcatgtatgt cgacatgtcg tcttttatgg gagatgaagt ttttaacttc. ccataactc
 361 tgttttaggt aaatgtagt ttgcagaaat tttctgccta aatctatttt gtactttgtt
 421 gatctaacat tccttacact tagtttctcc atttattgat tgattatttt tctctgtttg
 481 ttgaggcctt agcatgtttt gcttcctcct tttgctggca ggtgctgcgt gaggttacca
 541 gtgatactat tggagcttgt atatgatgtg tcctttggga ccattcttct gcatactgt
 601 gcagaagctg ctactagttt gttggagaac ctgttggaag acagcttctg ctgtttgt[1a]
 661 taataagatc agcttctagt tagtattact tataagttgc tgcagaattt tgtcgtttgg
 721 cagcaccgca gaatttttta ctgtgtagaa gctgtagaac atctatatat cacttttcaa
 781 tttgaagaat tgtaaagaga ggcaatggcc gcattctaag caggtgctct at[q:ggaaaatc
 841 cctagttgcg ca]tgtcatat agttagccat actagtatat agtagtatgt tggtaataaa

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lhts:g, lmth:g, ltgr:g, lyma:g, lakk:g, lank:g

【図 15】

配列番号 15 S0177

1 [p:ccttgtggtc acacttgagg] cggttgagag ggcgcccgcc ccagaagaaa ccaggccggg
 61 cttggcccgcc cgcggtcag catcctcacc gacgactcac ctgcacttct acttccacga
 121 caaggtgagc aagccatcac cgacggcagt gcgggtggtg gacccgggtg acccgatc
 181 gcggtccttc tttgggatga tcaacgtcat ggacgatccg ct[2g]acggagg ggcccgagcc
 241 cgagtccaag cccatgggcc gggcccaggg gctgtacatg ggctcagacc aggccaagct
 301 gggcttcctc caggcaatga acctggtgtt caccgacggc acctacaacg gcagcgtggt
 361 caccgtgctc ggccgcaact gcccttcga cgacgtccgg gagatgccgg tgatcgccgg
 421 caccggcgcc ttccgcttcg cccgcggcta cgcccaggcc aggacgca[q:ca ccctggacct
 481 caagaccg]ga

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

2ksh:a, 2hts:a, 2mth:a, 2yki:a, 2krr:a, 2tgr:a, 2ghm:a, 2mnk:a, 2yma:a,
 2hez:a, 2tkh:a, 2akk:a, 2ash:a, 2ank:a, 2mtb:a, 2hnh:a, 2ymt:a, 2hit:a,
 2mmm:a, 2fom:a, 2don:a, 2knh:a, 2ssk:a

【図 16】

配列番号 16 S0178

1 [p:tgcatcttt gcatgttgag c]tttaagatg tagtgggctt taactttata
 gaaa[lt]ata[2g]g
 61 attaatcct atagaatgtc atgatgcagg atgtcattaa taatcctcca agctgttccc
 121 ttttaacttt ttt[3-]ccctgtt acttgaaact tgactaagga tt[4-]ctcttcgt
 attaatgtgg
 181 attgtgtcac tgaccatatg gttgtatctt tctttcagcg ctctgctggg acttggaatg
 241 tttgtt[5g]ttt ttcagtgtt tcatggccat ggaactcaga atgtctccaa cgtgcaaatt
 301 cttggttgat atctagaa[6g]a tggttatttg tttgaaacaa tggaagcact tgatgttccc
 361 ttagcatata cacttgtgag cttgtgttga tagaattgta aagcttacat atgttttagt
 421 tctactatta tttgaagag [q:ggaaatgtgc agctggatgc]

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1krr:g, 1ghm:g, 1ksh:g, 1tkh:g, 1ymt:g, 1hit:g, 1mmm:g, 1fom:g, 1don:g,
 1knh:g, 2krr:a, 2ghm:a, 2ksh:a, 2tkh:a, 2ymt:a, 2hit:a, 2mmm:a, 2fom:a,
 2don:a, 2knh:a, 3krr:t, 3ghm:t, 3ksh:t, 3tkh:t, 3ymt:t, 3hit:t, 3mmm:t,
 3fom:t, 3don:t, 3knh:t, 4krr:gt, 4ghm:gt, 4ksh:gt, 4tkh:gt, 4ymt:gt, 4hit:gt,
 4mmm:gt, 4fom:gt, 4don:gt, 4knh:gt, 5krr:a, 5ghm:a, 5ksh:a, 5tkh:a, 5ymt:a,
 5hit:a, 5mmm:a, 5fom:a, 5don:a, 5knh:a, 6krr:c, 6ghm:c, 6ksh:c, 6tkh:c,
 6ymt:c, 6hit:c, 6mmm:c, 6fom:c, 6don:c, 6knh:c

【図 17】

配列番号 17 S0174

1 tt[p:gaatcggt tgcaggagag gg]cggtggcg atggcggagt tggttgggcc gcgggtgtac
 61 agctgtgtgt gctgccattg ccggaaccac gtctgcactc cagcagaca tcactccaa
 121 ggcctttcag gtgaagaaga acttgagttc ttggggattt gt[lg]gggctga ttgtcaagt
 181 gacaaatact aatcttaggt catgtactga caatctagat tgaattggat ttaatcacta
 241 ggcttctgat gtgcgtagt cggattgat ttggtatatt atgctaaaga a[q:ggtaaaaac
 301 atggcatagc cgc]a

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1ksh:a, 1tgr:a, 1mnk:a, 1yma:a, 1hez:a, 1akk:a, 1hnh:a, 1ymt:a, 1hit:a,
 1mmm:a, 1fom:a, 1don:a, 1knh:a

【図 18】

配列番号 18 S0185

1 [p:cgaccccatg aagcttttgc] ctctctcacg cttcttgcca cagccaaagt atgatgctag
61 cctaatttat agcttactgt ttccggtggt aaatttgctt gtagattcgg gttcacgtgc
121 aaacttgaat tgataacacc atgtcatgcc aactgctatc tttctcccaa caagtatttc
181 taaaactcaa ttgaacattg ataattctca agaaagctaa taagtgttac aaatactagc
241 agctctaaga aatatattca aattctaattg tatgcctatt aagcccaaag attccactat
301 tgtagtctgc attgtttgga attaattgat gaatctactg caggttctga ctacagaaat
361 agtgcagctt ctctgtccta tatgactata cgaaatgtta caagcaaagc atgaggaatg
421 [23a]atataaaaa actaaacaaa tagtgaaata tctatctaata taacaccaag gagttgcgta
481 actctgtttg cttctctctgc agggggccaaa gtcaaggagg gggcagaggt ggtggccgtg
541 gtggtggaag aggcggtttc cgtggccgtg gtggtggtgg cttccgtgga agaggcgcgc
601 caaggggccg tgggtggacct cct[q:aggggtg gaggtcgtgg attt]

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

23ksh:c、23krr:c、23tgr:c、23mnk:c、23yma:c、23hez:c、23tkh:c、23akk:c、
23ash:c、23ank:c、23mtb:c、23hnh:c、23hit:c、23mmm:c、23fom:c、23ssk:c

【図 19】

配列番号 19 S0208

1 atntccccct atcggatcgg tcatggagat gctactgcc aaccgatga actcctctcc
 61 cagtcgcggc gaatcaagcg accccgatga aaaatcgagc tccccggcga cggatcgacc
 121 tgccacgatg gcggattgag cggctcacct ctctcaccg gatccagcca
 g[1t]gtcgt[2g]gc
 181 catcttcgag ctcgagctgc atgcctccgt gcgacagcgg cggtgatcg gacaagggtg
 241 acgcggatct gtcggcctcc accccgatg agcgattttc cact[3ct]accg
 gattgag[4t]gt
 301 atatttggtt ttgtctttta tctgactgga tttctcttct ttttcttctt aattaggatt
 361 caattgttct taccataaag atgttttttag gcccgatttg gttaggtttt gggggaattt
 421 gggttaaact ctatcggttt tctataggag agacggggat agattcggtc ggtttcttta
 481 ggagggacgg acagaggaag tgcggagggc ggaggggatc gtgaacaaag gggacgctcc
 541 accaaaata

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1hts:g, 1mth:g, 1yki:g, 1krr:g, 1tgr:g, 1ghm:g, 1mnk:g, 1yma:g, 1ksh:g,
 1akk:g, 1ank:g, 1mtb:g, 1hnh:g, 1ymt:g, 1hit:g, 1mmm:g, 1don:g, 1knh:g,
 1ssk:g, 2hts:-, 2mth:-, 2yki:-, 2krr:-, 2tgr:-, 2ghm:-, 2mnk:-, 2yma:-,
 2ksh:-, 2akk:-, 2ank:-, 2mtb:-, 2hnh:-, 2ymt:-, 2hit:-, 2mmm:-, 2don:-,
 2knh:-, 2ssk:-, 3hts:c, 3mth:c, 3yki:c, 3krr:c, 3tgr:c, 3ghm:c, 3mnk:c,
 3yma:c, 3ksh:c, 3akk:c, 3ank:c, 3mtb:c, 3hnh:c, 3ymt:c, 3hit:c, 3mmm:c,
 3don:c, 3knh:c, 3ssk:c, 4hts:c, 4mth:c, 4yki:c, 4krr:c, 4tgr:c, 4ghm:c,
 4mnk:c, 4yma:c, 4ksh:c, 4akk:c, 4ank:c, 4mtb:c, 4hnh:c, 4ymt:c, 4hit:c,
 4mmm:c, 4don:c, 4knh:c, 4ssk:c

【図 20】

配列番号 20 S0007

```
1 gctagcttgg ccagcagtac gtgagtctga cgatgcat[p:gc atggatgacc ctgctaata]ta
61 attatacttc ctccatactc atagaaaaag tccttttagaa caatatttaa atcaaacatt
121 taaaatataa atcatgaata [3a]ctcttaaat tgttgagttt aaaaatgtaa aaattatatg
181 aatagatttg tcttgaaaaa tactttcata aaagtgcaca tatattactt ttcaataaat
241 atttttatag aaaaaagaag tcaaaattgt gttttgtaaa ccgtgtcgct gtccaaaacg
301 acttccttta cgagtatcaa ccaatcgaat tgccctccct ctcaaaagtc aacctcctcc
361 aaattaaagg catgcaagac gccaaaggcg gcagatctgt attcttcccg tggacgggtg
421 gcgcatgcat gcgtacaaac tttttttttt gttggatttg gtacgagcgt agctgataaa
481 gatagctagc tcatcagctt ccttcacaga atcacaagaa ctagtggcat atgaatccta
541 catacttcta tccaattcga tcgatcattc accttgtgcc tatgcaatag gcaatatctg
601 agctagcgaa cacagtaact ctcccctccc cctcctcac gcgccgatca taaattaata
661 ctccctccgt aatgtatgac gccgttaact ttttaagatg cgtttgatcg ttcatttat
721 ataaaaaaat atataatttt tattatttat ttaaagtatg atttaactat tatatttgta
781 tttgcacaaa aatttgaata agataaatag tcaaacatcg a[q:tcaaaaagt caacggcatc
841 a]tacattaaa aaataaagggt agtattcaat attttgtaaa atattgatcg gacttgtaaa
```

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmh/fom/don/knh/ssk

3yki:g, 3krr:g, 3ghm:g

【図 21】

配列番号 21 S0070

```
1 aacagtcctt gtatgcactg aacgtactgg tgcgg[p:cttgc ttgggcaatc gtcaa]cggtc
61 aagacgtact aaagagtgga ttaacaaaat gaatgtttta ctaactgtat agtgaacaca
121 agcggggcacc tatagtcgta acgaccgccg ccaaattgcc cagttgcgta cgcgagaatc
181 gatcgatcga gccgatccga tcagctagaa tattcgaacg gaataaagag aacatctcca
241 tgtcctgata cgtgtgtaca cacacgtacg tacgtgtata cgtatacgcg cgtgtgtatg
301 tgtacatatg tatatatata tatatatata catatacata tgtatgtatg tatatatata
361 tatacatatg tatgtatgta tgtatatata tatacatatg tatgtatgta tgtatatata
421 tatatacata tgtatgtgac ggagctcgtg gctcctcacc gggagaccgc gcaggcccc[lt]
481 ctttgccggt tcggccgggg gcttaggggt agatctcaag ctctctctct ctgtgtgtgg
541 aaagatcgtc tgctagcaag aaacgcgaga caccggcgat gtatacaggt tcgggccgct
601 gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt ggtggatctg tgtatgaatg agctacaaag
661 tgtgagccca cctctcccc gttctaagct ctgaatctgg caagaatcaa ccaaccctt
721 ctctatgggc aaggctctcc ttttatactt caaggggata ccacatgcac ctttccttt
781 ccaaactgga cttttcttct ctttatgaac ggagattggt atggttgccg tccgaatgac
841 acttcgatgg gacagccac acctacctcc actcccggcg gagacggcg caacgtggga
901 tcgtggctgc cc[q:gttgctga cgcgaccagt gt]cagaccgg tcattcttgt ccaccacgcg
```

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lmth:c, lghm:c, lhez:c, ldon:c

【図 22】

配列番号 22 S0310

1 gatgacttct actccctcgc tcccctaata taagggattt tgacatttt[p:g ctttccttgt
61 ttgaccactc g]ttttatatt ttttgtaaata ataaaaaata aaaagttgtg cttaaagtac
121 tctggataat aaagtaagtc acaataaaaa taaataataa tttcaaaatt ttct[lg]aataa
181 gacgaatggt caaaca[2g]tgc aagtaaaatg tcaaatccc ttatattaag
[3g]gacggaggg
241 agtatgtatt acctccaaaa tatagtaact t[4t]aagacgag atta[5g]atacc
acgaaaatat
301 attcttaact ctatgtatta ggttggtata tttttttaac agaga[6g]tagt atcaattcaa
361 agtggattaa ttactctttc [7c]gt[8c]ttaaag tataataact tctaagattc
aaaattttatc
421 cccaaacaaa caacttttca cctacatttc attctcaatc gactacaatc ttccactcca
481 [9t]atattttat tttctctac[10c] aatcacattc tttttcattt aacttcacac
tctctcttaa
541 aacttttata ttttgatacg gaggtagtagt aaaatttctg atcg[1lg]ttgat gtgcagtggc
601 aaaagagctc at[12g]agacatt ccaactgcaca gacaatctgg gccttcttac atggactggc
661 acaatttaac atatt[13c]caag ctgtgcct[14-]gg tggatgtagg gatgcaagta
ggtcaacccg
721 t[15a]aatccact tatatgcaaa ataagtag[16a]t att[17t]acgggt ttaccttact
aatttggttt
781 ataaatgggt ttatgggtcg acccatttgc atctctaggt gcgataagt[q:c aagccacgac
841 atgaaaatgg] gttaccactt atttgacgta taagtagatt ggcggtccg ttaattgca
nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmh/fom/don/knh/ssk

【図 23】

1krr:a、1tgr:a、1ghm:a、1mnk:a、1yma:a、1ksh:a、1akk:a、1ymt:a、1hit:a、
 1mmm:a、1fom:a、1don:a、1knh:a、2krr:a、2tgr:a、2ghm:a、2mnk:a、2yma:a、
 2ksh:a、2akk:a、2ymt:a、2hit:a、2mmm:a、2fom:a、2don:a、2knh:a、3krr:a、
 3tgr:a、3ghm:a、3mnk:a、3yma:a、3ksh:a、3akk:a、3ymt:a、3hit:a、3mmm:a、
 3fom:a、3don:a、3knh:a、4krr:-、4tgr:-、4ghm:-、4mnk:-、4yma:-、4ksh:-、
 4akk:-、4ymt:-、4hit:-、4mmm:-、4fom:-、4don:-、4knh:-、5krr:t、5tgr:t、
 5ghm:t、5mnk:t、5yma:t、5ksh:t、5akk:t、5ymt:t、5hit:t、5mmm:t、5fom:t、
 5don:t、5knh:t、6krr:a、6tgr:a、6ghm:a、6mnk:a、6yma:a、6ksh:a、6akk:a、
 6ymt:a、6hit:a、6mmm:a、6fom:a、6don:a、6knh:a、7krr:t、7tgr:t、7ghm:t、
 7mnk:t、7yma:t、7ksh:t、7akk:t、7ymt:t、7hit:t、7mmm:t、7fom:t、7don:t、
 7knh:t、8krr:t、8tgr:t、8ghm:t、8mnk:t、8yma:t、8ksh:t、8akk:t、8ymt:t、
 8hit:t、8mmm:t、8fom:t、8don:t、8knh:t、9krr:c、9tgr:c、9ghm:c、9mnk:c、
 9yma:c、9ksh:c、9akk:c、9ymt:c、9hit:c、9mmm:c、9fom:c、9don:c、9knh:c、
 10krr:t、10tgr:t、10ghm:t、10mnk:t、10yma:t、10ksh:t、10akk:t、10ymt:t、
 10hit:t、10mmm:t、10fom:t、10don:t、10knh:t、11krr:c、11tgr:c、11ghm:c、
 11mnk:c、11yma:c、11ksh:c、11akk:c、11ymt:c、11hit:c、11mmm:c、11fom:c、
 11don:c、11knh:c、12krr:c、12tgr:c、12ghm:c、12mnk:c、12yma:c、12ksh:c、
 12akk:c、12ymt:c、12hit:c、12mmm:c、12fom:c、12don:c、12knh:c、13krr:t、
 13tgr:t、13ghm:t、13mnk:t、13yma:t、13ksh:t、13akk:t、13ymt:t、13hit:t、
 13mmm:t、13fom:t、13don:t、13knh:t、14krr:g、14tgr:g、14ghm:g、14mnk:g、
 14yma:g、14ksh:g、14akk:g、14ymt:g、14hit:g、14mmm:g、14fom:g、14don:g、
 14knh:g、15krr:g、15tgr:g、15ghm:g、15mnk:g、15yma:g、15ksh:g、15akk:g、
 15ymt:g、15hit:g、15mmm:g、15fom:g、15don:g、15knh:g、16krr:g、16tgr:g、
 16ghm:g、16mnk:g、16yma:g、16ksh:g、16akk:g、16ymt:g、16hit:g、16mmm:g、
 16fom:g、16don:g、16knh:g、17krr:c、17tgr:c、17ghm:c、17mnk:c、17yma:c、
 17ksh:c、17akk:c、17ymt:c、17hit:c、17mmm:c、17fom:c、17don:c、17knh:c

【図 24】

配列番号 23 S0375

1 aatctgatat ttcttctggt tcaaatgata attg[p:acacaa gtgtgccatt ttgc]aaaaac
61 cataccttta atttcatttt atggtacgta tgccaagtaa aacttgtgaa ctacactatt
121 tagttgctta [lg]tcataaaga actcaagtat tcttttttg aggaaaagcc ttagaagagg
181 acagggagag cctgttttca ttaaagaaga agagacttgg cccagttttt gaggggaaac
241 caggcccaaa aacctcagaa ctcaagtatt ctattatatg aaacttaata aactgcgtca
301 aagctgtggt cttcttttct gttgttgac atcgcaagtt taagcctgaa atatgttatt
361 tttccatgtt gccattttct caataatgga agctttatta aaactcagtc aaatacaaca
421 agatgataca ttctaattga gccactccc gacctctgca agaatgcac acagccacaa
481 aacatgacct atctagaccc ccattgcctt cttcatgctc ttaatttctg taacatactg
541 ttcacctgtc tggctatctg ggatttttca aggtgtacac ctacggtcatt tttgatggaa
601 ggtgaagggg aattacctca actgaacaga ggatgctggt tatacagaac tactaacatc
661 gtaagaacat tctatgattc tgatgcagac atacagtaca gttttaatct aatcaaggag
721 gacgccatat gtgggacacc gcagcgaagt gtaaggagtc ctagaacatc taccttagga
781 gttaagaaga atctatgaga ttgtatgtat aaacatcagg tttctgcaaa tactcttatac
841 taaattccta atgcctgtat tgcaaataca tactttcagt tcgcattaaa gtgtgatagt
901 atgtatgtca cctt[q:tggtct caggtagctt ggca]aaatgg caggtcagac ggatcaagct

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lmth:c, ltgr:c, lmnk:c, ltkh:c, lash:c, lmtb:c, lhnh:c, lhit:c, lmmm:c,
ldon:c, lssk:c

【図 25】

配列番号 24 S0346

1 gagatatatt gcaatatttt gagaattatg tgaaatgatg atttaa[p:cgtg cttggatttt
 61 tgtaagc]tct aaaatttttaa gtgaggataa actatataag catataggat attataaaaa
 121 gtgaaggaga ggtatattga aatattatgt ggattatgtg ggatgataat ttaattaaca
 181 tgcttgcat ttaaagttct aaaacttaat aaattagcat gcttgcatga gattt[la]agat
 241 gta[2t]taaagtg ttagtgatg atgtggcatc tttgcatgtt gagctttaag atgtagtggg
 301 ctttaacttt atagaaa[3t]at a[4g]gattaatt cctatagaat gtcatgatgc
 aggatgtcat
 361 taataatcct ccaagctgtt cccttttaac tttttt[5-]ccct gttacttgaa acttgactaa
 421 ggatt[6-]ctctt cgtattaatg tggattgtgt cactgaccat atggttgat ctttctttca
 481 gcgcttcgct gggacttgga atgtttgtt[7g] ttttccagt ctttcatggc catggaactc
 541 agaatgtctc caacgtgcaa attcttggtt gtgatctaga a[8g]atggttat ttgtttgaaa
 601 caatggaagc acttgatgtt cccttagcat atacacttgt gagcttggtt tgatagaatt
 661 gtaaagctta catatgtttt agttctacta ttattttgaa ga[p:gggaaatg tgcagctgga
 721 tgc]

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1krr:g、1ghm:g、1ksh:g、1tkh:g、1ymt:g、1hit:g、1mmm:g、1fom:g、1don:g、
 1knh:g、2krr:g、2ghm:g、2ksh:g、2tkh:g、2ymt:g、2hit:g、2mmm:g、2fom:g、
 2don:g、2knh:g、3krr:g、3ghm:g、3ksh:g、3tkh:g、3ymt:g、3hit:g、3mmm:g、
 3fom:g、3don:g、3knh:g、4krr:a、4ghm:a、4ksh:a、4tkh:a、4ymt:a、4hit:a、
 4mmm:a、4fom:a、4don:a、4knh:a、5krr:t、5ghm:t、5ksh:t、5tkh:t、5ymt:t、
 5hit:t、5mmm:t、5fom:t、5don:t、5knh:t、6krr:gt、6ghm:gt、6ksh:gt、6tkh:gt、
 6ymt:gt、6hit:gt、6mmm:gt、6fom:gt、6don:gt、6knh:gt、7krr:a、7ghm:a、7ksh:a、
 7tkh:a、7ymt:a、7hit:a、7mmm:a、7fom:a、7don:a、7knh:a、8krr:c、8ghm:c、
 8ksh:c、8tkh:c、8ymt:c、8hit:c、8mmm:c、8fom:c、8don:c、8knh:c

【図 26】

配列番号 25 S0013

1 [p:aaattcggaa tggctagctg] ttgagagtca ttaactccat ccatgtgatg ggtaacacct
61 actctactct acagtataat actagtgtgg tactgatacg gtgattatat gctgtactat
121 cattatacta ctg[2c]ggccct gtttggttct at[3gg]actaat gtttagctct
cacattttaa
181 [6t]tttaaatta gccctc[7a]aga atccaaacag gtggg[10c]taat tttgagctaa
tgtgaattag
241 cccccct[12c]aa aatattagcc cctccaag[29g]g [30a]tgctaataag ggtaatttt
gtgtggggat
301 catcaaaaa[17g c]agctctctc tc[18-]ctctcttt ctactctctc caacttttag
ccttgaatta
361 gcccatggat ccaaataac caccctagc taatgttttag c[22a]tattaatt tatgactaaa
421 cattagctct taaaattagc cctgg[28-]ttaat ctaccaaca gacccctggt gtgttactg
481 tgcacgcgat gcacggacag ttctattctc tgtcttcaaa ggcttgaagc cggcaacata
541 tcgttttcat agacagct[27a]t tgtaccacaa cggtagtacc ctacttctcc atttctact
601 cagcttcgtc ttaacaaca ccgttgtacc atgcttacca tttgcctctc tatgaaaata
661 aaaacatcat ttcgattttc aaaaatatag ctcaactggg ttcaactcaa ctgtctaatt
721 aggcgatgta catatcaaca tcggaacgtc tataataact tcttaaatct caaaatata[q:t
781 tggttgaatc atcggaggt]

nhb/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/ksh/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

2krr:t, 3krr:at, 6krr:c, 7krr:g, 10krr:t, 12krr:t, 17krr:at, 18krr:tctc,
22krr:c, 28krr:g, 27krr:c, 29krr:a, 30krr:g

【図 27】

配列番号 26 S0347

```
1 attttcagaa cagtcacat agacatgcc aattactaca agcgaagact ggagaggtta
61 ggattcaaat agttaataat taactttttt t[lg]gaatcagt atgctatata tagttaaact
121 ttaggagaaa gaacattgtt gatatgaaga cactattgct ctaaataatga acaacacaca
181 caataaatct aagttcggtg tactgaacta tcaggatatgg acctatattc aaaactaaca
241 taggaggcca gcacgtggtc atatcccttg atcccgaggt gaaccagttc atatttcaac
301 aagaggggaa gttgttccaa tcctggtttc cagaaaccac actaaacatc tttggaaaga
361 agacactcac caggtataat agaactgctc acaagttgat cgggagcttc gtatgcaagc
421 tctatggccc tgaaaacgtg aaaaaatcac tcctgccaga actagagaac tccatgaggg
481 aaagcttggc gtcattgata ggaaaaccta gtgtcgaggt gaatgatggc gtgtcaaata
541 taagttaaca tctgcatttc tacataagta ttcacaattg cacagtgctc ataaaatcat
601 catgatgttt tactatgatt aatttctatt gtgcagatga tcttcggcct agctgccaaa
661 cattgattgg cctcgacatc accattcagg agattgaaaa agacttcag
```

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mmm/fom/don/knh/ssk

lmth:c, lkrr:c, lghm:c, lyma:c, lhez:c, lksh:c, ltkh:c, lakk:c, lank:c,
lmtb:c, lynt:c, lhit:c, lmmm:c, lfom:c, ldon:c, lknh:c, lssk:c

【図 28】

配列番号 27 S0330

1 cacac[p:atcaa gcacgatcgg aaacg]ttgta ctgtatctcc cgcataatga ttatggagtt
61 ggcaactcgag atcaagatat cagaatagta tatttttctg ttttcaattc ttcctctcca
121 cagagctctt cctagcctcg gcttgtgaga gtaagcgcgc ctcccagcca actaagaatt
181 tgtcggcctt cgcaatgggtt gggtgcaggt ctgctgttct caacttttgg attgacaaag
241 gaagacctaa ttaggacatt agcagggatt cctgtttgca ttgcagagtg tgaatcagct
301 gagactcttc ctccgctccc acatagatgc atatcattgt gctcttacta aagttgattt
361 gcagacttgt tgccctagaa aactcgtcta ggcaatgctt tagtggtgtt acataagcaa
421 tcgaagctcg tcaaataatc aatataacat tggcatactg cagagctgta cgaggctctt
481 gagggtagag atgggtgtcca gagcagggtt tgctctaaga aggcattgga gcacatctgc
541 cggatgaaca agtaagggtga cataggatca ccttgacgta gccctctctt acaaccgatc
601 cacctgcccc ggacttcatt gagaaggata gttgactttg aagtctgcta catgttgatc
661 acccaatgga tccaagtatc gggaatcctc ttgccctcat aatatctagc agactttccc
721 atcttatggt ttaggaggaa tt[la]tatgggtg tttgacaaat ttctaattaa atcttattgg
781 catatatttt tcagggaat atattgggtt tggttctaag cacaactaca aatgtgtgaa
841 aagtacaaga agctaaaaca tactgcatat caa[q:aacttgg agtccacggc cat]aaatata

nbb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
/hit/mm/fom/don/knh/ssk

1krr:g

【図 29】

配列番号 28 S0336

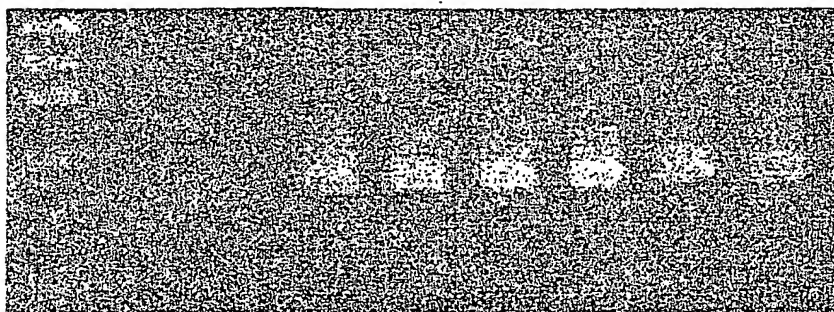
1 ttgaataaac catggaaaat tattacacat ataatacatt agc[p:gaccaa ttgtttcgcc
 61 ccta]actaga tgatgccccg cgctttgctg cgggatatat gttagatact ggagaaatga
 121 acaaatgatt tggattaaaa tattatgaaa atggtttgag aat[lt]agtatg tttagttttg
 181 gaatgaagta aattgtagat ataattacta tatgcttgca tggt[2a]aactt tgtgtgctta
 241 atgggttgat gtg[3g]catgct [4a]catgta[5a]gt tttaggagtg ctaataaata
 ctatg[6t]ttat
 301 atgttgagct ttaggtgttt agtgg[7a]catt agctttatag aaagaagaga tccctttcct
 361 ttttcaggtg attttctgtc cagtccacct cttttcatct ttttttggtta taataactct
 421 cgtggacgag aatttagagt atttaccatc caattcgtgt gcctcaactt ttttacactc
 481 aatccgtatg cctctataa tactccgtat gacattagga ctgctaacta gtctatttgg
 541 taccactttc t[8c]agtttttg atgtatttct cttttcttaa ctcaatttgt atttctttta
 601 tggcattgtg gacaattttg cccctaggcc cactgtaaga tcaaaggaag attgtcgtag
 661 gctctc[9c]gga ccttccatta tatttgagag ataaagtga taattcaagt catcaaacia
 721 gcataat[10g]aa acatccgacg cctcgagaga gaaatattgg agacattgct ggaccttag
 781 cctgccagtc aacttcagcc taaaatgtgc [q:tcgtcaaacc actcgaaggc] ggcgaccaga

nhb/ksh/hts/mth/yki/krr/tgr/ghm/mnk/yma/hez/tkh/akk/ash/ank/mtb/hnh/ymt
 /hit/mmm/fom/don/knh/ssk

1mth:c、1krr:c、1tgr:c、1mnk:c、1yma:c、1hez:c、1ksh:c、1akk:c、1hnh:c、
 1hit:c、1mmm:c、1fom:c、1ssk:c、2mth:g、2krr:g、2tgr:g、2mnk:g、2yma:g、
 2hez:g、2ksh:g、2akk:g、2hnh:g、2hit:g、2mmm:g、2fom:g、2ssk:g、3mth:a、
 3krr:a、3tgr:a、3mnk:a、3yma:a、3hez:a、3ksh:a、3akk:a、3hnh:a、3hit:a、
 3mmm:a、3fom:a、3ssk:a、4mth:g、4krr:g、4tgr:g、4mnk:g、4yma:g、4hez:g、
 4ksh:g、4akk:g、4hnh:g、4hit:g、4mmm:g、4fom:g、4ssk:g、5mth:g、5krr:g、
 5tgr:g、5mnk:g、5yma:g、5hez:g、5ksh:g、5akk:g、5hnh:g、5hit:g、5mmm:g、
 5fom:g、5ssk:g、6mth:c、6krr:c、6tgr:c、6mnk:c、6yma:c、6hez:c、6ksh:c、
 6akk:c、6hnh:c、6hit:c、6mmm:c、6fom:c、6ssk:c、7mth:g、7krr:g、7tgr:g、
 7mnk:g、7yma:g、7hez:g、7ksh:g、7akk:g、7hnh:g、7hit:g、7mmm:g、7fom:g、
 7ssk:g、8mth:t、8krr:t、8tgr:t、8mnk:t、8yma:t、8hez:t、8ksh:t、8akk:t、
 8hnh:t、8hit:t、8mmm:t、8fom:t、8ssk:t、9mth:t、9krr:t、9tgr:t、9mnk:t、
 9yma:t、9hez:t、9ksh:t、9akk:t、9hnh:t、9hit:t、9mmm:t、9fom:t、9ssk:t、
 10mth:a、10krr:a、10tgr:a、10mnk:a、10yma:a、10hez:a、10ksh:a、10akk:a、
 10hnh:a、10hit:a、10mmm:a、10fom:a、10ssk:a

【図 30】

M 1 2 3 4 5 6 7 8



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 イネ品種を迅速かつ簡便に鑑別可能な新しい方法の提供を課題とする

。

【解決手段】 日本国内で作付面積の多い24品種における多型部位を探索し、品種毎に比較した。そして、これらの品種を簡単かつ迅速に鑑別するための多型マーカーを取得した。該マーカーは、品種毎に異なるパターンを示し、組み合わせることによって品種の鑑別が可能であることが示された。つまり、イネ24品種の鑑定が可能な分子マーカーを取得することに成功した。該マーカーを利用することで、DNAレベルで近縁品種の識別・特定が可能となった。

【選択図】 なし

特願 2002-168875

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[500301371]

1. 変更年月日

2002年 1月21日

[変更理由]

住所変更

住 所

茨城県つくば市観音台1-25-2

氏 名

株式会社植物ゲノムセンター

特願 2002-168875

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[501203344]

1. 変更年月日

2001年 5月22日

[変更理由]

新規登録

住 所

茨城県つくば市観音台3-1-1

氏 名

独立行政法人 農業技術研究機構